



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ IV: Σύνθεσης και Ανάπτυξης
Βιομηχανικών Διαδικασιών
Εργαστήριο Τεχνολογίας Καυσίμων και
Λιπαντικών

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
ΜΕΛΕΤΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΣΕ
ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΝΤΗΖΕΛ

ΦΟΙΤΗΤΗΣ

Μικέλ Πόνε

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ

Φ. Ζαννίκος, Καθηγητής ΕΜΠ

Αθήνα, 2023

Πρόλογος

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε κατά το ακαδημαϊκό έτος 2022-2023, στο Εργαστήριο Τεχνολογίας Καυσίμων και Λιπαντικών της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή κ. Φανούριο Ζαννίκο, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε με την ανάθεση της παρούσας εργασίας, αλλά και για την συνεχή ενθάρρυνσή και καθοδήγηση που παρείχε καθ' όλη την διάρκεια της εκπόνησης της. Αντίστοιχα, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον καθηγητή κ. Δημήτριο Καρώνη ο οποίος ήταν πάντα παρών, δίνοντας πολύτιμες συμβουλές.

Επιπλέον, οφείλω να ευχαριστήσω την Δρ. Μαρία Κομιώτου, αφενός για την διαρκή μέριμνα που παρείχε ώστε να επιτευχθεί η απρόσκοπτη και άρτια εκπόνηση της παρούσας διπλωματικής εργασίας, και αφετέρου για τις συμβουλές και τις συζητήσεις οι οποίες διαδραμάτισαν ζωτικό ρόλο στην υλοποίηση της.

Δεν θα μπορούσα να μην ευχαριστήσω την Δρ. Υπατία Ζαννίκου για την σημαντική βοήθεια της, αλλά και τον συνάδελφο Νίκο Σωτηρόπουλο για την ανεκτίμητη συνεισφορά και άψογη συνεργασία.

Κλείνοντας, θα ήθελα πρωτίστως να ευχαριστήσω όλο το προσωπικό του εργαστηρίου, όλους τους φίλους που απέκτησα κατά τη διάρκεια των σπουδών μου και φυσικά την οικογένεια μου για την αμέριστη υποστήριξη και συμπαράσταση τους σε όλη την διάρκεια των σπουδών μου.

Περίληψη

Στο πλαίσιο της παρούσας διπλωματικής εργασίας πραγματοποιήθηκε έρευνα και καταγραφή της μικροβιακής επιμόλυνσης σε δείγματα ντήζελ κίνησης και παράλληλα μελετήθηκε η έκταση χρήσης των βιοκτόνων. Η έρευνα είχε στόχο την μελέτη του φαινομένου της μικροβιακής επιμόλυνσης και της εφαρμογής βιοκτόνων σε πραγματικές συνθήκες σε δείγματα πετρελαίου από διάφορα τμήματα της εφοδιαστικής αλυσίδας καυσίμων. Για να επιτευχθεί αυτό, χρησιμοποιήθηκε μέθοδος βασιζόμενη στο πρότυπο ASTM D7687-23 για τον προσδιορισμό του μικροβιακού φορτίου και μικροβιολογική μέθοδος επώασης δειγμάτων για την ανίχνευση βιοκτόνων. Τα ευρήματα της μελέτης έδειξαν ότι η μικροβιακή ανάπτυξη παρατηρήθηκε σε περιορισμένη έκταση και υπήρχε κυρίως στα πρατήρια καυσίμων και στους τελικούς χρήστες. Ομοίως, η χρήση βιοκτόνων, αν και περιορισμένη, ήταν πιο διαδεδομένη στα πρατήρια καυσίμων και κυρίως στους τελικούς χρήστες. Στα δείγματα εγκαταστάσεων δεν παρατηρήθηκε η ύπαρξη μικροβιακού φορτίου, ούτε ανιχνεύθηκε χρήση βιοκτόνων. Παράλληλα, η περιεκτικότητα σε νερό επιβεβαιώθηκε ως σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει τη μικροβιακή επιμόλυνση. Η αυξημένη περιεκτικότητα σε νερό συσχετίστηκε σταθερά με αυξημένα περιστατικά μικροβιακής ανάπτυξης. Επιπλέον, οι περιπτώσεις μικροβιακής επιμόλυνσης συνδέονταν συχνά με αυξημένη περιεκτικότητα σε νερό απουσία χρήσης βιοκτόνου. Αντίθετα, η παρουσία βιοκτόνων συσχετίστηκε σταθερά με την απουσία μικροβιακής επιμόλυνσης. Ταυτόχρονα, διερευνήθηκε η επιρροή της περιεκτικότητας σε FAME (Μεθυλεστέρες Λιπαρών Οξέων) στη μικροβιακή επιμόλυνση στο ντήζελ κίνησης. Ωστόσο, εξαιτίας των σχεδόν παρόμοιων επιπέδων περιεκτικότητας τους σε όλα τα δείγματα, δεν επιβεβαιώθηκε η ύπαρξη επίδρασης. Άξιο αναφοράς είναι το γεγονός ότι κατά την μελέτη της επίδρασης του χρόνου αποθήκευσης στη μικροβιακή επιμόλυνση στο ντήζελ κίνησης, παρά τις μεγάλες διακυμάνσεις μεταξύ των χρόνων ανάλυσης των δειγμάτων, δεν αποδείχθηκε η ύπαρξη συσχετισμού. Αυτή η παρατήρηση μπορεί να αποδοθεί σε διαφορές μεταξύ των εργαστηριακών συνθηκών αποθήκευσης και εκείνων που επικρατούν στα πρατήρια καυσίμων, στους τελικούς χρήστες και στις εγκαταστάσεις αποθήκευσης. Επιπλέον, δε διαπιστώθηκε ύπαρξη

συσχέτισης μεταξύ της μικροβιακής επιμόλυνσης και των περιοχών δειγματοληψίας, ούτε μεταξύ της χρήσης βιοκτόνων και των περιοχών δειγματοληψίας.

Αυτή η ολοκληρωμένη καταγραφή της μικροβιακής επιμόλυνσης και της δυναμικής χρήσης βιοκτόνων στην αγορά ντήζελ κίνησης, επιφέρει σημαντικές πληροφορίες που όχι μόνο ενισχύουν την κατανόησή για τους παράγοντες που επηρεάζουν τη μικροβιακή επιμόλυνση, αλλά παρέχουν επίσης ουσιαστική καθοδήγηση για την εφαρμογή αποτελεσματικών προληπτικών μέτρων στον κλάδο.

Abstract

Within the context of this thesis, research was conducted to investigate and document, the microbial contamination in samples of diesel fuel and the use of biocides. The research aimed to study microbial contamination and the application of biocides in real-world conditions in samples of diesel from various segments of the fuel supply chain.

To achieve this, a method based on the ASTM D7687-23 standard was used to determine the microbial content, and a microbiological method of incubation of samples was employed to detect biocides. The findings of the study indicated that microbial growth was observed to a limited extent, primarily at fuel stations and among end-users. Similarly, the use of biocides, while limited, was more widespread at fuel stations and mainly among end-users. In samples from facilities, no microbial load was observed, and the possible use of biocides was not detected. Additionally, the water content was confirmed as a significant factor affecting microbial contamination. Increased water content combined with an absence of biocide use, was consistently associated with more frequent cases of microbial growth. In contrast, the presence of biocides was consistently associated with the absence of microbial contamination. Simultaneously, the influence of FAME (Fatty Acid Methyl Esters) content in diesel fuel on microbial contamination was explored. However, due to the similar levels of FAME content in all samples, no significant impact was confirmed.

It is worth noting that during the study of the effect of storage time on microbial contamination in diesel fuel, despite significant variations in the analysis times of the samples, no correlation was established. This observation may be attributed to differences between laboratory storage conditions and those prevalent at fuel stations, end-users, and storage facilities. Moreover, no correlation was found between microbial contamination and sampling locations or between biocide use and sampling locations.

This comprehensive documentation of microbial contamination and the dynamics of biocide use in the diesel fuel market provides valuable insights that not only enhance understanding of the factors influencing microbial

contamination but also offer substantial guidance for the implementation of effective preventive measures in the industry.

Περιεχόμενα

| | |
|---|-----|
| Πρόλογος | I |
| Περίληψη | III |
| Abstract..... | V |
| ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ..... | X |
| ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ..... | XI |
| ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΕΙΚΟΝΩΝ | XII |
| 1 ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ | 1 |
| 1.1 Ορυκτά Καύσιμα | 1 |
| 1.2 Πετρέλαιο Diesel | 2 |
| 1.2.1 Γενικά | 2 |
| 1.2.2 Προδιαγραφές diesel κίνησης | 3 |
| 1.3 Περιβαλλοντικές Επιπτώσεις | 4 |
| 1.4 Βιοκαύσιμα..... | 8 |
| 1.4.1 Γενικά | 8 |
| 1.4.2 Βιοντήζελ..... | 11 |
| 1.5 Μικροβιακή Ανάπτυξη | 20 |
| 1.5.1 Γενικά | 20 |
| 1.5.2 Προέλευση | 23 |
| 1.5.3 Επιπτώσεις | 25 |
| 1.5.4 Τρόποι Πρόληψης και Αντιμετώπισης | 30 |
| 1.5.5 Τρόποι προσδιορισμού μικροβιακού φορτίου | 35 |
| 1.5.6 Προσδιορισμός της Τρι-φωσφορικής Αδενοσίνης (ATP) | 38 |
| 1.6 Βιοκτόνα..... | 42 |
| 1.6.1 Κριτήρια επιλογής βιοκτόνων..... | 43 |
| 1.6.2 Ταξινόμηση | 44 |
| 1.6.3 Δοσολογία-Αποτελεσματικότητα | 46 |
| 1.6.4 Ανίχνευση βιοκτόνων | 49 |
| 2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ | 50 |
| 2.1 Μέθοδος προσδιορισμού μικροβιακού φορτίου (προσδιορισμός Τρι- Φωσφορικής Αδενοσίνης) | 50 |
| 2.2 Μικροβιολογική μέθοδος ανίχνευσης βιοκτόνου | 55 |
| 2.3 Προσδιορισμός περιεχόμενου FAME σε ντήζελ κίνησης | 58 |
| 2.4 Μέθοδος προσδιορισμού περιεκτικότητας σε νερό σε ντήζελ κίνησης | 59 |

| | | |
|-----|---|----|
| 3 | ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ | 60 |
| 3.1 | Εισαγωγή | 60 |
| 3.2 | Μελέτη μικροβιακής επιμόλυνσης σε διάφορα σημεία δειγματοληψίας .. | 60 |
| 3.3 | Διερεύνηση χρήσης βιοκτόνων σε διάφορα σημεία δειγματοληψίας | 63 |
| 3.4 | Μελέτη μικροβιακής επιμόλυνσης σε δείγματα σε σχέση με την υγρασία | 65 |
| 3.5 | Μελέτη μικροβιακής επιμόλυνσης σε δείγματα εκτός προδιαγραφής σε υγρασία – επίδραση χρήσης βιοκτόνων | 66 |
| 3.6 | Μελέτη μικροβιακής επιμόλυνσης σε σχέση με α) την περιεκτικότητα σε FAME και β) τον χρόνο αποθήκευσης | 67 |
| 3.7 | Ανάλυση της μικροβιακής επιμόλυνσης και της χρήσης βιοκτόνων με βάση την περιοχή προέλευσής των δειγμάτων | 68 |
| 4 | ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ..... | 68 |
| 4.1 | Εισαγωγή: Εξερεύνηση συσχέτισης και ανάλυση της επιρροής διάφορων παραγόντων στην μικροβιακή ανάπτυξη | 68 |
| 4.2 | Μικροβιακή επιμόλυνση – Σημείο Δειγματοληψίας..... | 69 |
| 4.3 | Βιοκτόνο – Σημείο Δειγματοληψίας | 70 |
| 4.4 | Μικροβιακή επιμόλυνση – Υγρασία | 71 |
| 4.5 | Μικροβιακή επιμόλυνση - Υγρασία εκτός προδιαγραφής – Βιοκτόνο | 71 |
| 4.6 | Μικροβιακή επιμόλυνση – Περιεκτικότητα σε FAME – Χρόνος αποθήκευσης | 72 |
| 4.7 | Μικροβιακή Επιμόλυνση - Βιοκτόνο - Περιοχή Προέλευσης..... | 72 |
| 5 | ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ | 73 |
| | ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ..... | 76 |
| | Παράρτημα 1 | 86 |
| | Παράρτημα 2 | 90 |
| | Παράρτημα 3 | 93 |

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ

| | |
|---|----|
| Πίνακας 1-1: Προδιαγραφές diesel ελληνικής αγοράς [6]..... | 3 |
| Πίνακας 1-2: Κατηγορίες Βιοκαυσίμων [20,21]..... | 10 |
| Πίνακας 1-3: Τυπικοί μικροοργανισμοί που ανιχνεύονται σε δεξαμενές αποθήκευσης ντίζελ και βιοντίζελ [51]..... | 22 |
| Πίνακας 1-4: Προβλήματα/Επιπτώσεις μικροβιακής επιμόλυνσης των καυσίμων [50]..... | 27 |
| Πίνακας 1-5: Ερμηνεία αποτελεσμάτων μεθόδου 1ης γενιάς ATP [53]..... | 41 |
| Πίνακας 1-6: Ερμηνεία αποτελεσμάτων μεθόδου 2ης γενιάς ATP [53,80]..... | 41 |
| Πίνακας 1-7: Ουσίες με βιοκτόνο δράση στον τομέα καυσίμων [3,53,61]..... | 46 |
| Πίνακας 6-1: Κύριες μετρήσεις και πληροφορίες..... | 86 |
| Πίνακας 6-2: Μετρήσεις καταλληλότητας διακίνησης στην αγορά..... | 90 |
| Πίνακας 6-3: Μετρήσεις χρόνου αποθήκευσης μεταξύ 1ης και 2ης μέτρησης..... | 93 |

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

| | |
|--|----|
| Διάγραμμα 1-1: Παγκόσμια κατανάλωση πρωτογενούς ενέργειας ανά τύπο καυσίμου [9]..... | 1 |
| Διάγραμμα 1-2: Εκπομπές ρύπων στην Ε.Ε. ανά τομέα το 2019 [10]..... | 5 |
| Διάγραμμα 1-3: Εκπομπές Αερίων Θερμοκηπίου ανά τομέα Παγκοσμίως [11]..... | 6 |
| Διάγραμμα 1-4: Πρώτες ύλες για την παραγωγή βιοντίζελ. (a) Η.Π.Α. (b) Ε.Ε. [38]..... | 13 |
| Διάγραμμα 1-5: Σύστημα φιλτραρίσματος καυσίμου [59]..... | 32 |
| Διάγραμμα 1-6: Στάδια προγραμμάτων παρακολούθησης συστήματος καυσίμων [3]..... | 33 |
| Διάγραμμα 3-1: Μικροβιακό φορτίο δειγμάτων αγοράς..... | 61 |
| Διάγραμμα 3-2: Κατανομή προβληματικών δειγμάτων..... | 61 |
| Διάγραμμα 3-3: Κατανομή συνόλου δειγμάτων ανά σημείο δειγματοληψίας..... | 62 |
| Διάγραμμα 3-4: Παρουσία βιοκτόνου επι του συνόλου των δειγμάτων..... | 63 |
| Διάγραμμα 3-5: Ποσοστά ανίχνευσης βιοκτόνου ανά σημείο δειγματοληψίας..... | 64 |
| Διάγραμμα 3-6: Ποσοστά δειγμάτων με μικροβιακό φορτίο > 10 pg ATP/mL..... | 65 |
| Διάγραμμα 3-7: Καταγραφή μικροβιακού φορτίου και ανίχνευση βιοκτόνου σε δείγματα εκτός προδιαγραφής σε νερό..... | 66 |

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΕΙΚΟΝΩΝ

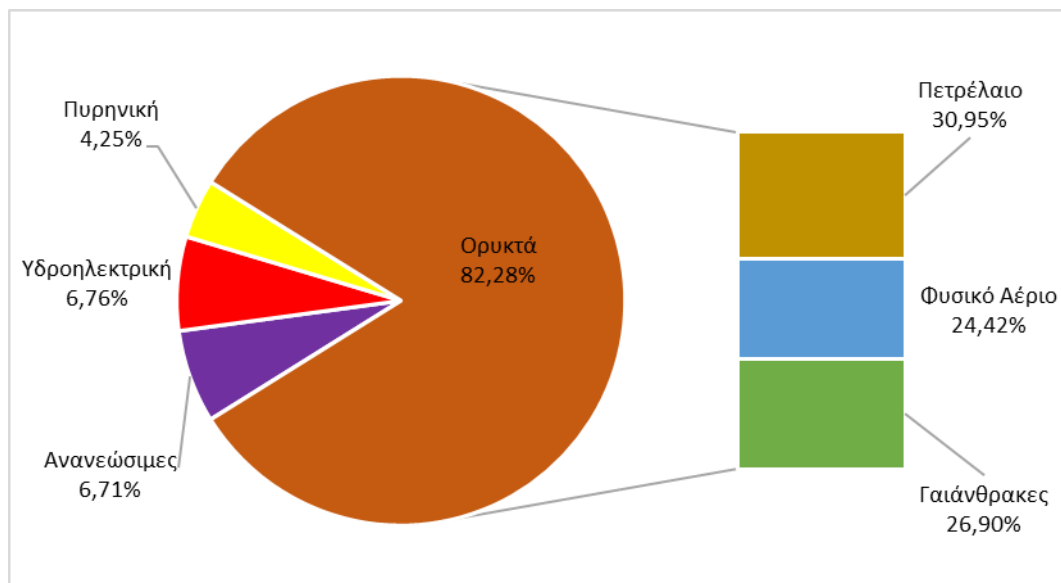
| | |
|--|----|
| Εικόνα 1-1: Διάκριση βιοκαυσίμων σε γενιές [25] | 8 |
| Εικόνα 1-2: Βιοκαύσιμα 4ης Γενιάς [37] | 10 |
| Εικόνα 1-3: Χρήσεις βιοντίζελ [46]..... | 11 |
| Εικόνα 1-4: Γενική αντίδραση μετεστεροποίησης τριγλυκερίδιου [28] | 12 |
| Εικόνα 1-5: Πλεονεκτήματα χρήσης του βιοντίζελ [39]..... | 14 |
| Εικόνα 1-6: Μειονεκτήματα χρήσης του βιοντίζελ [47]..... | 17 |
| Εικόνα 1-7: Παραδείγματα επιμόλυνσης δεξαμενών καυσίμων [48]..... | 21 |
| Εικόνα 1-8: Μικροβιακή επιμόλυνση ντίζελ [52]..... | 24 |
| Εικόνα 1-9: Σχηματισμός βιοφίλμ στην διεπαφή καυσίμου-νερού [54]..... | 26 |
| Εικόνα 1-10: Διάβρωση σε εξαρτήματα του συστήματος διακίνησης και αποθήκευσης [53]..... | 28 |
| Εικόνα 1-11: Επιμολυσμένο φίλτρο αντλίας καυσίμου από μικροοργανισμούς [57]..... | 29 |
| Εικόνα 1-12: Εσωτερικό δεξαμενής καυσίμου [66]..... | 31 |
| Εικόνα 1-13: Σύστημα καθαρισμού δεξαμενής καυσίμου [67]..... | 34 |
| Εικόνα 1-14: Παράδειγμα ανίχνευσης μικροβιακής επιμόλυνσης με την μέθοδο Thixotropic Gel Culture [53]..... | 36 |
| Εικόνα 1-15: Δομή ATP [73]..... | 38 |
| Εικόνα 1-16: Κυτταρική, Ελεύθερη και Ολική ATP [75]..... | 39 |
| Εικόνα 1-17: Τομείς χρήσης βιοκτόνων (HVAC—heating, ventilation, and air conditioning) [63]..... | 42 |
| Εικόνα 1-18: Κριτήρια επιλογής βιοκτόνων [68]..... | 44 |
| Εικόνα 1-19: THPS (tetrakis hydroxymethyl phosphonium sulfate) [65]..... | 45 |
| Εικόνα 1-20: Δράση μη υδατοδιαλυτού βιοκτόνου [69]..... | 45 |
| Εικόνα 1-21: Αποτελέσματα δοσολογίας των βιοκτόνων [70]..... | 47 |
| Εικόνα 2-1: Διαδικασία ενυδάτωσης της Luminase [80]..... | 51 |
| Εικόνα 2-2: Luminase σε ξηρή μορφή [81]..... | 51 |
| Εικόνα 2-3: Βαθμονόμηση Ενζύμου [5,80]..... | 52 |
| Εικόνα 2-4: Μέτρηση όγκου δείγματος [80]..... | 52 |
| Εικόνα 2-5: Φιλτράρισμα δείγματος [80]..... | 53 |
| Εικόνα 2-6: Καθαρισμός και ξήρανση φίλτρου [80]..... | 53 |
| Εικόνα 2-7: Εκχύλιση ATP [80]..... | 54 |
| Εικόνα 2-8: Ανάλυση δείγματος [5,80]..... | 55 |
| Εικόνα 2-9: Δοκίμια του test kit για ανίχνευση ουσιών με βιοκτόνο δράση [82]..... | 56 |
| Εικόνα 2-10: Συσκευή επώασης..... | 57 |
| Εικόνα 2-11: Δοκίμια (Αμπούλες) εμπορικού kit..... | 57 |
| Εικόνα 2-12: Συσκευή IROX Diesel [83]..... | 58 |
| Εικόνα 2-13: Συσκευή μέτρησης περιεκτικότητας σε νερό στο ντήζελ κίνησης [84]..... | 59 |

1 ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.1 Ορυκτά Καύσιμα

Η ευημερία και η επιβίωση του σύγχρονου κόσμου εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την ενέργεια καθώς κάθε παραγωγική δραστηριότητα απαιτεί την χρήση της. Έτσι, η παραγωγή, και οι πηγές παραγωγής ενέργειας διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην λήψη αποφάσεων, για ζητήματα που αφορούν την καθημερινότητα και όχι μόνο. Τα ορυκτά (ή συμβατικά) καύσιμα αποτελούν την κυριότερη πηγή ενέργειας για την ανθρωπότητα προς το παρόν, λόγω της αφθονίας, της σχετικά χαμηλής τιμής, και της ικανότητας τους να αποδίδουν ικανοποιητικά ποσά ενέργειας κατά την χρήση τους. Το 2021, περισσότερο από το 80% της παγκόσμιας ενέργειας που καταναλώθηκε, προήλθε από τα ορυκτά καύσιμα (πετρέλαιο, φυσικό αέριο και γαιάνθρακας) και συγκεκριμένα κατά 30,95% από το πετρέλαιο, 24,42% από το φυσικό αέριο και 26,90% από τους γαιάνθρακες [8].

Διάγραμμα 1-1: Παγκόσμια κατανάλωση πρωτογενούς ενέργειας ανά τύπο καυσίμου [9].



Ως ορυκτά καύσιμα ορίζεται οποιαδήποτε κατηγορία υδρογονανθράκων που περιέχει υλικά βιολογικής προέλευσης, και συναντάται στο φλοιό της Γης. Όλα περιέχουν άνθρακα και σχηματίστηκαν ως αποτέλεσμα γεωλογικών διεργασιών που δρουν στα υπολείμματα οργανικής ύλης που παράγεται από τη φωτοσύνθεση, μια διαδικασία που ξεκίνησε 2,5 έως 4 δισεκατομμύρια χρόνια πριν [1]. Κατατάσσονται δε σε τρεις κατηγορίες ανάλογα με την φυσική κατάσταση στην οποία βρίσκονται [2]:

- Στερεά Ορυκτά Καύσιμα → Τα συμβατικά καύσιμα που βρίσκονται σε στερεή κατάσταση, δηλαδή το ξύλο και όλες οι κατηγορίες ανθράκων (π.χ. Λιγνίτης, Ανθρακίτης, Λιθάνθρακας κ.α.).
- Υγρά Ορυκτά Καύσιμα → Τα καύσιμα που βρίσκονται σε υγρή μορφή. Ουσιαστικά αφορούν όλα τα υγρά προϊόντα που προέρχονται από την επεξεργασία του αργού πετρελαίου (π.χ. diesel κίνησης, βενζίνη, κηροζίνη κ.α.), και υγρά προϊόντα που προέρχονται από την αναβάθμιση στερεών καυσίμων.
- Αέρια Ορυκτά Καύσιμα → Τα καύσιμα που βρίσκονται σε αέρια κατάσταση. Στην κατηγορία αυτή ανήκει το φυσικό αέριο, τα αέρια που παράγονται από την αναβάθμιση στερεών καυσίμων, και τα υγραέρια.

Από τα παραπάνω, ως φυσικά χαρακτηρίζονται οι γαιάνθρακες, το αργό πετρέλαιο, και το φυσικό αέριο, καθώς συναντώνται σε υπόγεια ή υποθαλάσσια κοιτάσματα από όπου και εξορύσσονται. Έτσι, αποτελούν φυσικά πρωτογενή καύσιμα, ενώ τα προϊόντα τους (π.χ. τα προϊόντα διύλισης αργού πετρελαίου) αποτελούν τεχνητά δευτερογενή καύσιμα [3].

1.2 Πετρέλαιο Diesel

1.2.1 Γενικά

Το diesel, ως παράγωγο του αργού πετρελαίου, διαδραματίζει βασικό ρόλο σε διάφορους τομείς, όπως για παράδειγμα οι μεταφορές και η παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας. Είναι καύσιμο που χρησιμοποιείται στους κινητήρες diesel, όπου η ανάφλεξη προκαλείται από την συμπίεση του, και αποτελείται από μείγματα υδρογονανθράκων, όπως: παραφίνες, ναφθένια, αρωματικά και σε μικρότερες συγκεντρώσεις ολεφίνες [4,5].

Κύριοι τύποι πετρελαίου που συναντώνται στην ελληνική αγορά [5]:

- πετρέλαιο κίνησης
- πετρέλαιο θέρμανσης
- πετρέλαιο εφοδιασμού πλοίων

Μερικές από τις κύριες χρήσεις του diesel είναι για [4]:

- Οδικές Μεταφορές
- Σιδηροδρομικές Μεταφορές
- Ναυτιλία
- Παραγωγή Ηλεκτρικής Ενέργειας
- Στρατιωτικές Μεταφορές

Η διαφορά μεταξύ των πετρελαίων που προορίζονται για διαφορετικές χρήσεις (χερσαίες μεταφορές-κίνησης, θέρμανση, ναυτιλία) βρίσκεται σε διάφορα χαρακτηριστικά. Στα φθηνότερα πετρέλαια (θέρμανσης και ναυτιλίας), προστίθενται οι ιχνηθέτες solvent yellow 124 (Euromarker) και κινιζαρίνη αντίστοιχα, με στόχο την διευκόλυνση ελέγχων περιστατικών

ανάμιξης. Οι προδιαγραφές που αφορούν το diesel κίνησης είναι αυστηρότερες, κυρίως για την πυκνότητα, τον αριθμό κετανίου και την περιεκτικότητα σε θείο, εξαιτίας των δύο παρακάτω λόγων [2]:

- 1) Οι κινητήρες diesel για να λειτουργήσουν ομαλά και ικανοποιητικά χρειάζονται ένα καύσιμο με αρκετά σταθερές ιδιότητες. Έτσι η χρήση διαφορετικού καυσίμου από αυτό για το οποίο έχουν κατασκευαστεί, θα σήμαινε μεγάλες αστοχίες (μη λειτουργία, φθορά και κατά συνέπεια καταστροφή του εξοπλισμού).
- 2) Καθώς οι κινητήρες diesel αποτελούν σημαντική πηγή εκπομπής ρύπων (CO, CO₂, NO_x, SO₂, κ.α.), άρα και επιβάρυνσης του περιβάλλοντος, κρίθηκε σκόπιμο να μειωθούν οι εκπομπές αυτές, με αποτέλεσμα την επιβολή αυστηρότερων προδιαγραφών, όπως αυτή που αφορά την μείωση της περιεκτικότητας του θείου στο καύσιμο.

1.2.2 Προδιαγραφές diesel κίνησης

Τα diesel σε ένα σύγχρονο διυλιστήριο παρασκευάζονται από την ανάμειξη των διαθέσιμων gasoil. Η βασική διεργασία παραγωγής gasoil είναι η ατμοσφαιρική απόσταξη του αργού πετρελαίου. Τα διάφορα συστατικά αναμιγνύονται έτσι ώστε το τελικό diesel να ικανοποιεί τις αντίστοιχες προδιαγραφές. Οι προδιαγραφές προέρχονται από τα χαρακτηριστικά των καυσίμων που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή του diesel, και τις απαιτήσεις των κατασκευαστών κινητήρων.

Πίνακας 1-1: Προδιαγραφές diesel ελληνικής αγοράς [6].

| Ιδιότητα | Τιμή | | Μέθοδος Ελέγχου |
|---|------|------|------------------------------|
| | Min | Max | |
| Αριθμός Κετανίου | 51 | - | EN ISO 5165 EN 15195 |
| Δείκτης Κετανίου | 46 | - | EN ISO 4264 |
| Πυκνότητα (kg/m ³ , 15 °C) | 820 | 845 | EN ISO 3675 EN ISO 12185 |
| Περιεκτικότητα σε Πολυκυκλικούς Αρωματικούς Υδρογονάνθρακες (% m/m) | - | 8.0 | EN 12916 |
| Flash Point (°C) | 55 | - | EN ISO 2719 |
| Περιεκτικότητα σε Θείο (mg/kg) | - | 10.0 | EN ISO 20846 EN ISO 20884 |
| Περιεκτικότητα σε Νερό (mg/kg) | - | 200 | EN ISO 12937 |

| | | | |
|--|---------|-------|--------------|
| Διάβρωση Χάλκινου Ελάσματος (3h στους 50 °C) | Class 1 | | EN ISO 2160 |
| Τέφρα (% κ.β.) | - | 0.010 | EN ISO 6245 |
| Συνολική Επιμόλυνση (mg/kg) | - | 24 | EN 12662 |
| Περιεχόμενο σε μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων (FAME) (% v/v) | - | 7.0 | EN 14078 |
| Υπόλειμμα Άνθρακα (% m/m) | - | 0.30 | EN ISO 10370 |
| Κινηματικό ιξώδες (cSt, 40 °C) | 2.00 | 4.50 | EN ISO 3104 |
| Λιπαντική Ικανότητα (WSD 1.4, 60 °C) | - | 460 | EN ISO 12156 |
| Απόσταξη | | | |
| %v/v ανάκτησης στους 250 °C | - | 65.0 | EN ISO 3405 |
| %v/v ανάκτησης στους 350 °C | 85.0 | - | |
| 95% v/v ανάκτηση (°C) | - | 360 | |
| Σημείο Απόφραξης Ψυχρού Φίλτρου (°C) | | | |
| α. από 1/10 έως 15/3 | - | -5 | EN 116 |
| β. από 16/3 έως 30/9 | - | 5 | |

Το πετρέλαιο κίνησης μπορεί να υποκατασταθεί μερικώς από ορισμένες ποσότητες (έως 7% κ.ο.) μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων (FAME - Fatty Acid Methyl Esters). Όσο αφορά την ελληνική αγορά προς το παρόν, η υποκατάσταση αυτή λαμβάνει χώρα αποκλειστικά στο diesel κίνησης, με την προσθήκη βιοντήζελ, αποσκοπώντας στο να καταστεί φιλικότερο προς το περιβάλλον. Ωστόσο, αυτή η ενέργεια έχει και ανεπιθύμητες δράσεις [5]. Μια από αυτές, είναι ότι το καύσιμο γίνεται πιο επιρρεπές στην μικροβιακή ανάπτυξη, φαινόμενο το οποίο φαίνεται να επηρεάζεται και από άλλους παράγοντες, όπως η περιεκτικότητα του σε θείο και η περιεκτικότητά του σε νερό [7]. Κρίνεται λοιπόν σκόπιμη, η μελέτη του παραπάνω φαινομένου, η οποία αποτελεί αντικείμενο της παρούσας διπλωματικής εργασίας.

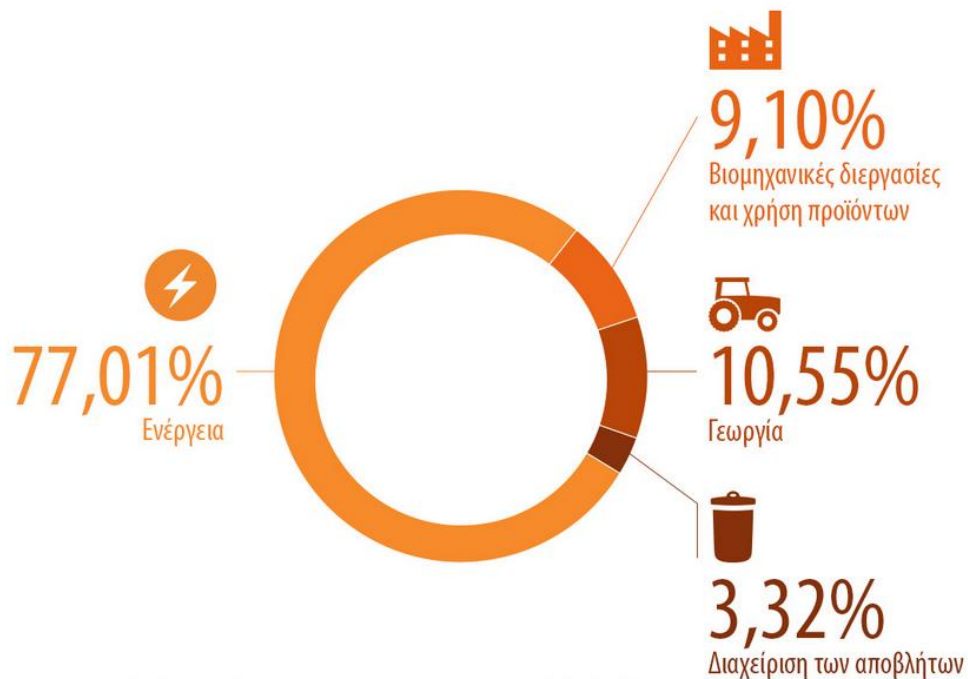
1.3 Περιβαλλοντικές Επιπτώσεις

Παρά την ζωτική σημασία των ορυκτών καυσίμων για την κάλυψη των ενεργειακών αναγκών της ανθρωπότητας, η αυξανόμενη ζήτηση και χρήση τους έχει και μειονεκτήματα. Μερικά από αυτά είναι:

- Ο μη ανανεώσιμος χαρακτήρας τους → Αναδεικνύει την ανάγκη στροφής προς διαφορετικές πηγές παραγωγής ενέργειας, με στόχο την εξασφάλιση επάρκειας πιο μακροπρόθεσμα.
- Η ατμοσφαιρική ρύπανση → Η χρήση τους εντείνει το φαινόμενο του θερμοκηπίου, και συνεισφέρει στην συχνότερη εμφάνιση φαινομένων όπως η όξινη βροχή, και η αιθαλομίχλη [3].

Ειδικότερα, η χρήση ορυκτών καυσίμων στον τομέα της ενέργειας, αποτελεί την βασικότερη πηγή εκπομπών αερίων ρύπων που συντελούν στο φαινόμενο του θερμοκηπίου και κατά συνέπεια στην υπερθέρμανση του πλανήτη [8]. Αυτό παρατηρείται και στο παρακάτω διάγραμμα, όπου στην Ε.Ε. το 2019, ο τομέας της ενέργειας ευθυνόταν για περισσότερο από τα 3/4 των συνολικών εκπομπών [10].

Διάγραμμα 1-2: Εκπομπές ρύπων στην Ε.Ε. ανά τομέα* το 2019 [10].



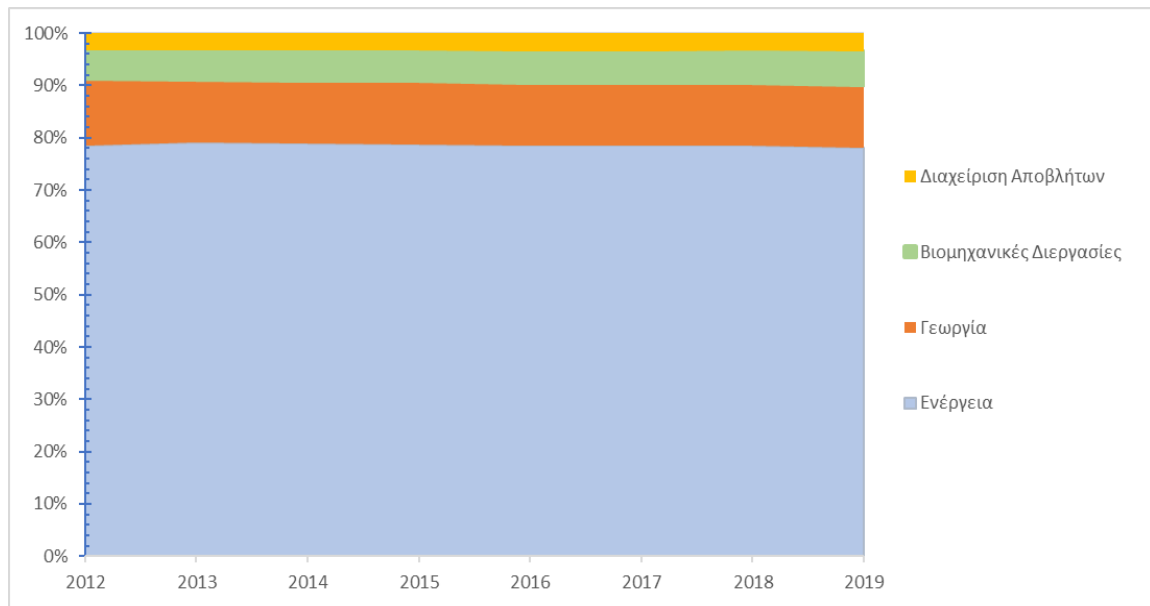
*Εξαιρούνται οι μεταβολές στη χρήση της γης, η χρήση γης και η υλοτομία (LULUCF)
Τα ποσοστά δεν αθροίζονται 100% λόγω στρογγυλοποίησης

Πηγή: Ευρωπαϊκός Οργανισμός Περιβάλλοντος (ΕΟΠ)



Παράλληλα και σε παγκόσμιο επίπεδο τα τελευταία χρόνια, αποτυπώνεται αντίστοιχη εικόνα αφού οι εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου ανέρχονταν σε ποσοστό μεγαλύτερο του 75% [11].

Διάγραμμα 1-3: Εκπομπές Αερίων Θερμοκηπίου ανά τομέα Παγκοσμίως [11].



Μερικά από τα αέρια που προκαλούν το φαινόμενο του θερμοκηπίου είναι το διοξείδιο του άνθρακα (CO_2), το οποίο συναντάται σε μεγαλύτερα ποσοστά από τα υπόλοιπα, το μεθάνιο (CH_4) και το υποξείδιο του αζώτου (N_2O). Κατά το φαινόμενο αυτό η ηλιακή ενέργεια που επανεκπέμπεται από την Γη εγκλωβίζεται στα χαμηλότερα ατμοσφαιρικά στρώματα, με αποτέλεσμα την σταδιακή άνοδο της θερμοκρασίας του πλανήτη, και τις περιβαλλοντικές και κλιματικές αλλαγές.

Εκτός των εξαιρετικά επιβλαβών για το περιβάλλον, αερίων του θερμοκηπίου που εκπέμπονται κατά την χρήση των ορυκτών καυσίμων, άλλα αέρια που εκπέμπονται είναι : α) Διοξείδιο του θείου ($\text{SO}_2 \rightarrow$ Όξινη Βροχή), β) Μονοξείδιο του Άνθρακα ($\text{CO} \rightarrow$ Εκπέμπεται από αυτοκίνητα, φορτηγά, πλοία κ.α. \rightarrow Δηλητηριώδες για τον άνθρωπο), γ) Μονοξείδιο του Αζώτου ($\text{NO} \rightarrow$ Παράγει αιθαλομίχλη τις ζεστές μέρες η οποία οδηγεί σε αναπνευστικές ασθένειες μετά από παρατεταμένη έκθεση) [12].

Πέρα από την ατμοσφαιρική ρύπανση που προκαλείται από την χρήση των ορυκτών καυσίμων, υπάρχουν επιπλέον επιπτώσεις εξίσου σημαντικές όπως [12]:

- Η εξόρυξη, η επεξεργασία και η μετακίνηση πετρελαίου, φυσικού αερίου και γαιανθράκων από υπόγεια κοιτάσματα έχουν τεράστιο αντίκτυπο στα οικοσυστήματα. Η βιομηχανία ορυκτών καυσίμων

μισθώνει τεράστιες εκτάσεις γης για υποδομές, όπως πηγάδια, αγωγούς, δρόμους πρόσβασης, καθώς και εγκαταστάσεις επεξεργασίας, αποθήκευσης και διάθεσης αποβλήτων. Στην περίπτωση της επιφανειακής εξόρυξης, ολόκληρα τμήματα εδάφους - συμπεριλαμβανομένων δασών και ολόκληρων βουνοκορφών - απομακρύνονται ώστε να εκτεθεί και να εξορυχθεί ο υπόγειος άνθρακας ή το πετρέλαιο. Η γη από την οποία έχουν απομακρυνθεί τα θρεπτικά συστατικά δεν θα επανέλθει ποτέ στην αρχική της κατάσταση, ακόμη και μετά τη διακοπή των εργασιών. Ως αποτέλεσμα, ο βίοτοπος της άγριας ζωής, γη που είναι ζωτικής σημασίας για την αναπαραγωγή και τη μετανάστευση, καταλήγει άφορος και καταστροφικός. Ακόμη και τα ζώα που θα φύγουν μπορεί να καταλήξουν να υποφέρουν, καθώς συχνά καταλήγουν σε λιγότερο ιδανικό βίοτοπο και πρέπει να ανταγωνιστούν την υπάρχουσα άγρια ζωή για πόρους.

- Επιπλέον, η εξόρυξη ενέχει κινδύνους για τους υδάτινους πόρους, καθώς απορρίπτονται τεράστιες ποσότητες αποβλήτων σε αυτούς. Οι πετρελαιοκηλίδες, και οι διαρροές κατά τις εξορύξεις ή/και κατά τις μεταφορές μολύνουν τις πηγές πόσιμου νερού, και θέτουν σε κίνδυνο ολόκληρα οικοσυστήματα γλυκών και θαλασσινών νερών. Παράλληλα, το fracking (υδρορωγμάτωση ή υδραυλική ρωγμάτωση) και τα τοξικά του υγρά έχουν επίσης βρεθεί ότι μολύνουν το πόσιμο νερό. Εν τω μεταξύ, όλες οι εργασίες γεώτρησης, fracking και εξόρυξης παράγουν τεράστιους όγκους λυμάτων που περιέχουν βαρέα μέταλλα, ραδιενεργά υλικά και άλλους ρύπους. Οι βιομηχανίες αποθηκεύουν αυτά τα απόβλητα σε υπαίθριους λάκκους ή υπόγεια πηγάδια που μπορεί να διαρρεύσουν ή να υπερχειλίσουν σε υδάτινες οδούς και να μολύνουν τους υδροφόρους ορίζοντες με ρύπους που συνδέονται με καρκίνο, νευρολογικές βλάβες κ.α.

Παρατηρείται λοιπόν ότι η εξόρυξη και χρήση των ορυκτών καυσίμων ενέχει πολλούς κινδύνους και επιπτώσεις τόσο για τον άνθρωπο όσο και για το περιβάλλον. Έτσι, έχουν γίνει και συνεχίζουν να γίνονται προσπάθειες για την αντιμετώπιση και εξάλειψη των κινδύνων αυτών• με την χρήση βιοκαυσίμων, και την μείωση των εκπεμπόμενων ρύπων, και ταυτόχρονα διερευνώνται και αναπτύσσονται συνέχεια νέες μορφές ενέργειας.

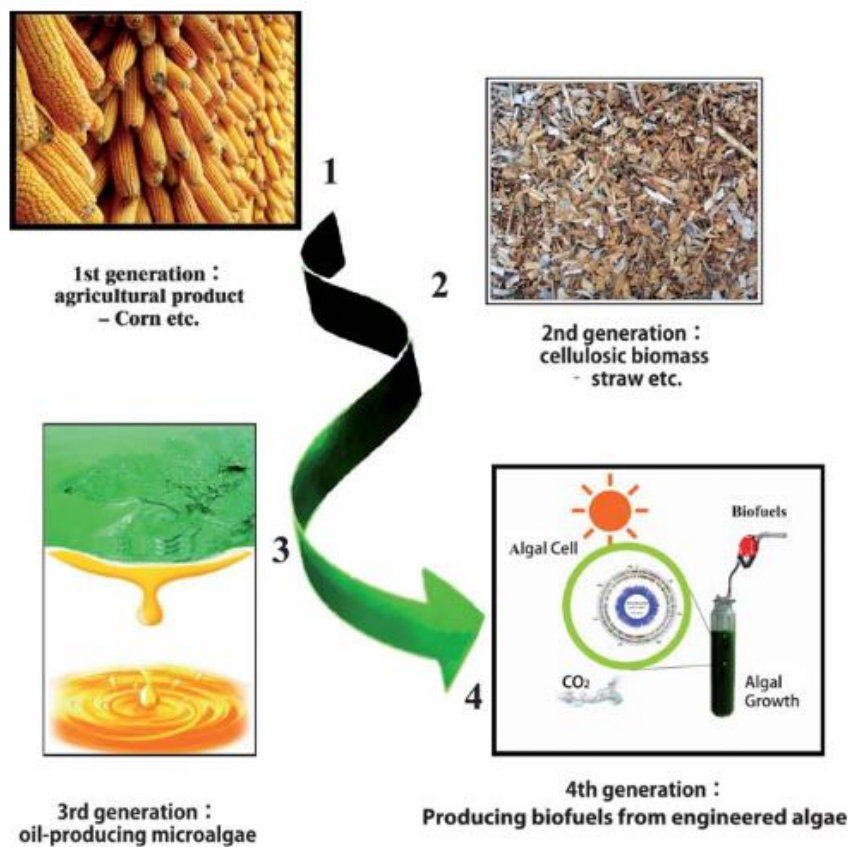
1.4 Βιοκαύσιμα

1.4.1 Γενικά

Ως βιοκαύσιμα χαρακτηρίζονται τα στερεά, υγρά ή αέρια καύσιμα που προέρχονται άμεσα ή έμμεσα από την βιομάζα. Η βιομάζα είναι οργανικό υλικό που προέρχεται από ζωντανούς οργανισμούς όπως φυτά και ζώα. Μπορεί είτε να καεί με σκοπό την παραγωγή θερμότητας, είτε να αναβαθμιστεί σε βιοκαύσιμα όπως π.χ. ζύμωση για παραγωγή βιοαιθανόλης, αναερόβια χώνευση για παραγωγή βιοαερίου, κ.α. [13].

Τα βιοκαύσιμα μπορούν να κατηγοριοποιηθούν με διάφορους τρόπους και ένας από αυτούς είναι αναλόγως την πρώτη ύλη που χρησιμοποιείται για την παραγωγή τους σε, 1^{ης}, 2^{ης}, 3^{ης} και 4^{ης} γενιάς βιοκαύσιμα [16].

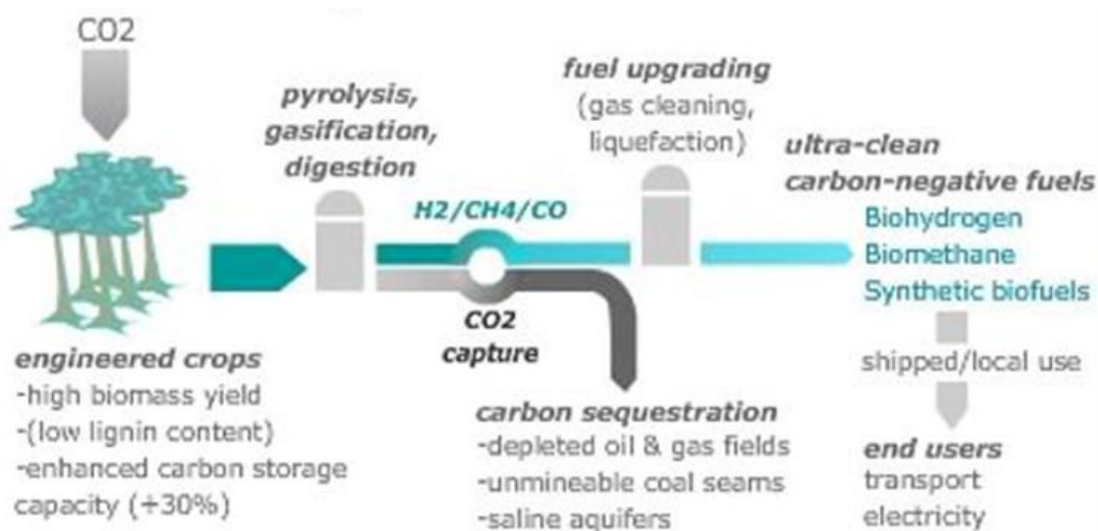
Εικόνα 1-1: Διάκριση βιοκαυσίμων σε γενιές [25].



- i. 1^{ης} γενιάς → Αποτελούν τα πιο γνωστά βιοκαύσιμα καθώς η παραγωγή τους βασίζεται σε ήδη υπάρχουσες τεχνολογίες όπως η ζύμωση, η απόσταξη και η μετεστεροποίηση, και για τον λόγο αυτόν συχνά αναφέρονται και ως συμβατικά βιοκαύσιμα. Μεγάλο μέρος των πρώτων υλών που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή τους, χρησιμοποιείται και στην διατροφική αλυσίδα ανθρώπων και ζώων. Αυτό αποτελεί σημαντικό μειονέκτημα των βιοκαυσίμων αυτών, καθώς η χρήση τους μπορεί να έχει αρνητική επίδραση στην διαθεσιμότητα των τροφών [17,18].
- ii. 2^{ης} γενιάς → Η χρήση βρώσιμων πρώτων υλών για την παραγωγή βιοκαυσίμων οδήγησε στην ανάπτυξη της συγκεκριμένης κατηγορίας. Έτσι, για την παραγωγή βιοκαυσίμων 2^{ης} γενιάς χρησιμοποιούνται συνήθως μη βρώσιμες πρώτες ύλες, όπως: φύλλα, κελύφη καρπών, χρησιμοποιημένο τηγανέλαιο κ.α. Ένα από τα μειονεκτήματα της συγκεκριμένης κατηγορίας βιοκαυσίμων είναι η διαθεσιμότητα των πρώτων υλών [18].
- iii. 3^{ης} γενιάς → Τα βιοκαύσιμα της συγκεκριμένης γενιάς παράγονται έχοντας ως πρώτη ύλη έλαια προερχόμενα από μικροφύκη (Άλγη). Σημαντικά πλεονεκτήματα αποτελούν, η δέσμευση ατμοσφαιρικού διοξειδίου του άνθρακα από τα άλγη για την παραγωγή, και η δυνατότητα καλλιέργειας τους σε εκτάσεις ακατάλληλες για γεωργία (μη ανταγωνιστικά με τα τρόφιμα). Ωστόσο, υπάρχουν και προκλήσεις όπως είναι η χαμηλή απόδοση και το υψηλό αρχικό κόστος επένδυσης, τα οποία καθιστούν την παραγωγή τους σε μεγάλη κλίμακα προς το παρόν ασύμφορη [17,19].
- iv. 4^{ης} γενιάς → Αποτελούν ουσιαστικά αναβάθμιση των βιοκαυσίμων 3^{ης} γενιάς καθώς οι πρώτες ύλες προέρχονται από γενετικά τροποποιημένα άλγη. Κύριοι στόχοι των τροποποιήσεων είναι η αύξηση της απόδοσης και η μεγαλύτερη δέσμευση διοξειδίου του άνθρακα. Εγείρονται ωστόσο ερωτήματα, για τις πιθανές επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία και το περιβάλλον, που μπορεί να έχουν οι τροποποιήσεις αυτές. Επιπλέον, σημαντική πρόκληση για την παραγωγή τους σε μεγάλες κλίμακες, αποτελεί η έλλειψη

τεχνογνωσίας, αφού η έρευνα και ανάπτυξη των μεθόδων βρίσκεται σε πρώιμα στάδια [23,24].

Εικόνα 1-2: Βιοκαύσιμα 4ης Γενιάς [37].



Πίνακας 1-2: Κατηγορίες Βιοκαυσίμων [20,21,22].

| | Πρώτη Ύλη | Μέθοδος Παραγωγής | Βιοκαύσιμο |
|------------------------|--|---|---|
| 1 ^{ης} γενιάς | Σιτάρι, Ζαχαροκάλαμο, Καλαμπόκι, Ηλιέλαιο, φοινικέλαιο | Ζύμωση, Μετεστεροποίηση, Υδρόλυση | Βιοαιθανόλη, Βιοντίζελ, Βιοαέριο |
| 2 ^{ης} γενιάς | Φύλλα, Κελύφη Καρπών, Αγροτικά & Δασοκομικά Υπολείμματα, | Πυρόλυση, Εξαερίωση | Βιοαέριο, Βιοντίζελ, Βιοαιθανόλη, Βιομεθανόλη, Βιοϋδρογόνο, Βιοαέριο |
| 3 ^{ης} γενιάς | Άλγη | Μετεστεροποίηση, Υδρογονοεπεξεργασία | Βιοντίζελ, Βιοαιθανόλη |

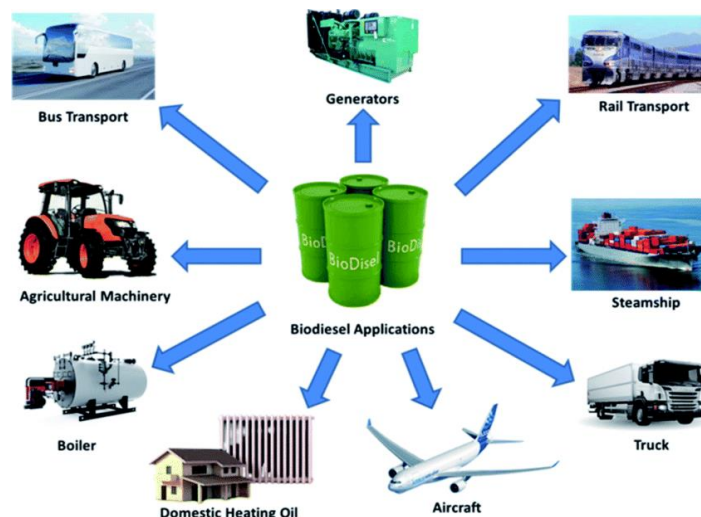
| | | | |
|-----------------------|-----------------------------|--------------------------------|---------------------------------------|
| 4 ^η γενιάς | Γενετικά τροποποιημένα άλγη | Πυρόλυση, Αεριοποίηση, Χώνευση | Βιοϋδρογόνο, Βιομεθάνιο, Βιοβουτανόλη |
|-----------------------|-----------------------------|--------------------------------|---------------------------------------|

Στον τομέα των μεταφορών η χρήση των βιοκαυσίμων χρονολογείται την ίδια περίοδο με την ανακάλυψη των μηχανών εσωτερικής καύσης. Στις αρχές της δεκαετίας του 1860 όταν ο γερμανός Nikolaus August Otto σε συνεργασία με τον μηχανικό Michael Joseph Zons, ανέπτυξαν για πρώτη φορά την τετράχρονη έκδοση μηχανής εσωτερικής καύσης γνωστή και ως κινητήρας ανάφλεξης με σπινθήρα, θεωρείται πώς χρησιμοποίησε βιοαιθανόλη για καύσιμο στον κινητήρα. Όμοια ο Rudolf Diesel, εφευρέτης του κινητήρα ανάφλεξης με συμπίεση, δοκίμασε διάφορα καύσιμα για τον κινητήρα του, μερικά από τα οποία ήταν η αιθανόλη και το βιοντήζελ [14].

Ο ρόλος των βιοκαυσίμων ως καύσιμα μεταφοράς υποβαθμίστηκε σημαντικά λόγω της χρήσης των ορυκτών καυσίμων τα οποία αποτέλεσαν την επικρατέστερη επιλογή. Ωστόσο, ο ανανεώσιμος και φιλικότερος προς το περιβάλλον χαρακτήρας τους, έχει επαναφέρει το ενδιαφέρον της διεθνούς κοινότητας προς τα βιοκαύσιμα, στα πλαίσια μιας προσπάθειας που γίνεται τα τελευταία χρόνια για την μείωση, τόσο της υπερβολικής εξάρτησης από τα ορυκτά καύσιμα, όσο και των περιβαλλοντικών επιπτώσεων που έχει η χρήση τους [15].

1.4.2 Βιοντήζελ

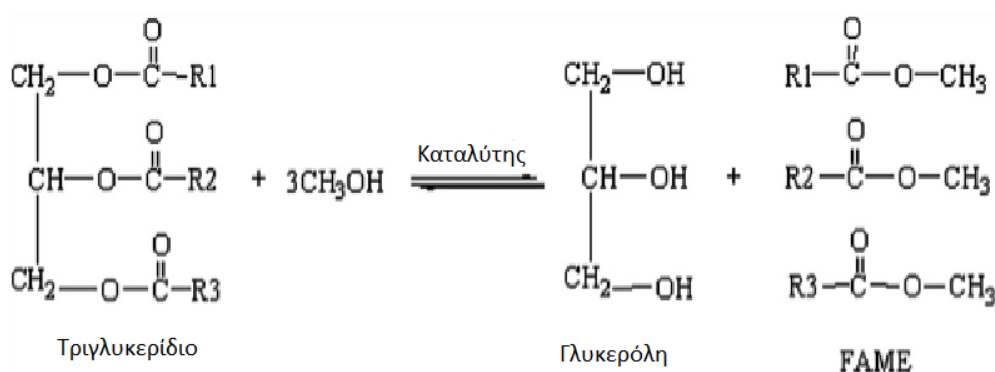
Εικόνα 1-3: Χρήσεις βιοντήζελ [46].



1.4.2.1 Γενικά

Το βιοντήζελ είναι ένα εναλλακτικό καύσιμο που προέρχεται από φυσικούς πόρους όπως φυτικά έλαια, ζωικά λίπη και χρησιμοποιημένα μαγειρικά έλαια. Παράγεται συνήθως χρησιμοποιώντας τη διαδικασία της μετεστεροποίησης, η οποία περιλαμβάνει την αντίδραση της πρώτης ύλης με μια αλκοόλη και έναν καταλύτη, για τη δημιουργία ενός καυσίμου που μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε κινητήρες ντήζελ ως αυτούσιο ή σε μείγματα με το πετρελαϊκό ντήζελ [26]. Αναλυτικότερα, η διαδικασία περιλαμβάνει την αντίδραση ενός τριγλυκεριδίου (κύριο συστατικό ενός λίπους ή λαδιού) με μια αλκοόλη μικρού μοριακού βάρους, συνήθως μεθανόλη ή αιθανόλη, παρουσία καταλύτη. Αποτέλεσμα της παραπάνω αντίδρασης είναι η παραγωγή του βιοντήζελ, και της γλυκερόλης (ή γλυκερίνης) ως παραπροϊόν [27].

Εικόνα 1-4: Γενική αντίδραση μετεστεροποίησης τριγλυκεριδίων [28].



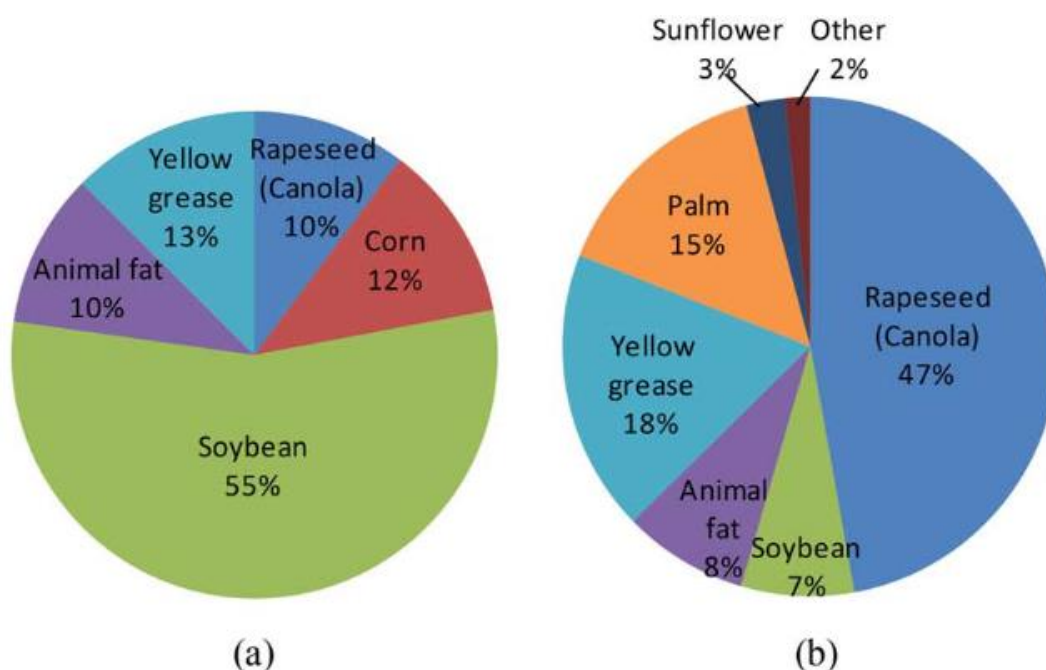
Μερικά από τα πιο κοινά R- στους μεθυλεστέρες, που παράγονται, είναι τα παρακάτω:

- Παλμιτικό (C16:0)
- Στεατικό (C18:0)
- Ελαϊκό (C18:1)
- Λινελαϊκό (C18:2)
- Λινολενικό (C18:3)

Ωστόσο, οι ιδιότητες του βιοντήζελ, συμπεριλαμβανομένης της χημικής του σύνθεσης, μπορεί να ποικίλλουν ανάλογα με την πρώτη ύλη που χρησιμοποιείται για την παραγωγή του. Επίσης, η επιλογή της πρώτης ύλης

είναι ένας κρίσιμος παράγοντας για τον καθορισμό της ποιότητας και της απόδοσης του [29]. Έτσι, καθώς σε κάθε περιοχή υπάρχει διαφορετική διαθεσιμότητα σε πρώτες ύλες, είναι αναμενόμενο η σύσταση του παραγόμενου βιοντίζελ να διαφέρει από περιοχή σε περιοχή.

Διάγραμμα 1-4: Πρώτες ύλες για την παραγωγή βιοντίζελ. (α) Η.Π.Α. (β) Ε.Ε. [38].



Εφόσον μια από τις κύριες χρήσεις του βιοντίζελ είναι ως υποκατάστατο στον τομέα των μεταφορών έναντι του πετρελαϊκού ντίζελ, είναι αναμενόμενο να υπόκεινται σε ορισμένες προδιαγραφές ποιότητας, έτσι ώστε να μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε κινητήρες εσωτερικής καύσης χωρίς να δημιουργούνται προβλήματα, ή να απαιτούνται τροποποιήσεις στον κινητήρα. Μερικές από αυτές αφορούν το ιξώδες, την πυκνότητα, τον αριθμό κετανίου (CN), το σημείο ανάφλεξης κ.α. [5].

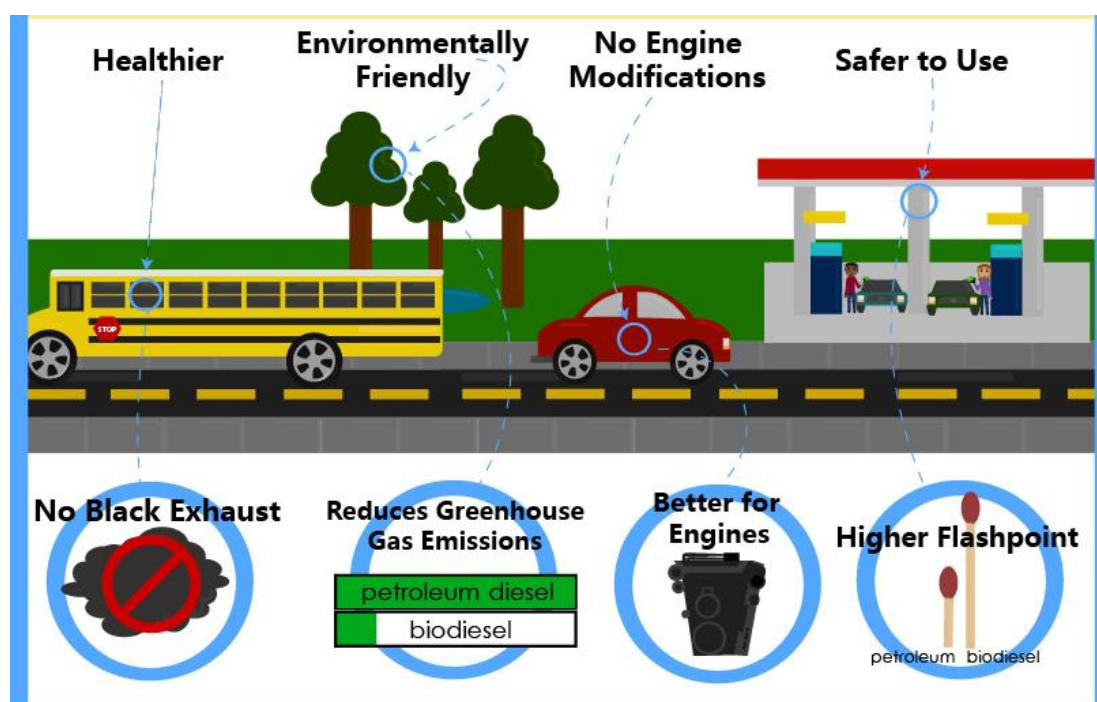
Παρατηρείται επιπλέον ότι η χρήση του βιοντίζελ αυξάνεται ολοένα και περισσότερο σε παγκόσμια κλίμακα, εξαιτίας των πλεονεκτημάτων που έχει τόσο στο περιβάλλον, όσο και στην οικονομία [26]. Ωστόσο, δεν μπορεί ακόμα να αντικαταστήσει πλήρως τα συμβατικά καύσιμα, καθώς πέραν των πλεονεκτημάτων, υπάρχουν και μειονεκτήματα που πρέπει να εξεταστούν προσεκτικά, ώστε να μην προκύψουν παρόμοια ή και χειρότερα προβλήματα

σε σύγκριση με αυτά που έχουν προκύψει από την χρήση των συμβατικών καυσίμων.

1.4.2.2 Πλεονεκτήματα-Μειονεκτήματα

Πλεονεκτήματα

Εικόνα 1-5: Πλεονεκτήματα χρήσης του βιοντίζελ [39].



- Είναι ανανεώσιμο καύσιμο:
Καθώς προέρχεται από ανανεώσιμες πηγές όπως τα φυτικά έλαια και τα ζωικά λίπη, έχει κερδίσει σημαντική προσοχή τα τελευταία χρόνια λόγω της δυνατότητάς του να μειώσει την εξάρτηση από τα ορυκτά καύσιμα στον τομέα των μεταφορών, τα οποία αναμένεται να εξαντληθούν μελλοντικά [30].
- Χαμηλότερες εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου:
Το βιοντίζελ έχει αναγνωριστεί ως ανανεώσιμο καύσιμο ικανό να μειώσει τις εκπομπές αερίων θερμοκηπίου (GHG) σε σύγκριση με τα ορυκτά καύσιμα. Το βιοντίζελ εκπέμπει διοξείδιο του άνθρακα

(CO₂) όταν καίγεται σε έναν κινητήρα ντίζελ, αλλά η ποσότητα που απελευθερώνεται αντισταθμίζεται από το CO₂ που απορροφάται από τις καλλιέργειες που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή του, με αποτέλεσμα ουδέτερο ή ακόμη και αρνητικό αποτύπωμα άνθρακα [31]. Ανάλογα με το ποσοστό του βιοντίζελ που χρησιμοποιείται σε διάφορες αναλογίες στους κινητήρες εσωτερικής καύσης, από 20% έως 100% (χρήση μόνο βιοντίζελ σε κινητήρα) μπορεί να μειώσει τις εκπομπές GHG από 15% έως 75% αντίστοιχα σε σύγκριση με το πετρελαϊκό ντίζελ [36].

- Μπορεί να χρησιμοποιηθεί στους υπάρχοντες ντίζελοκινητήρες και να βελτιώσει την λειτουργία τους:

Το βιοντίζελ μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε υπάρχοντες κινητήρες ντίζελ με ελάχιστη ή καθόλου τροποποίηση. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι έχει παρόμοιες ιδιότητες με το πετρελαϊκό ντίζελ με υψηλότερο αριθμό κετανίου, χαμηλότερη περιεκτικότητα σε θείο και καλύτερη λιπαντική ικανότητα, με αποτέλεσμα καθαρότερη καύση. Επιπλέον, η χρήση βιοντίζελ σε υπάρχοντες κινητήρες ντίζελ μπορεί να παρατείνει τη διάρκεια ζωής του κινητήρα και να μειώσει το κόστος συντήρησης λόγω των λιπαντικών του ιδιοτήτων, οι οποίες μπορούν επίσης να μειώσουν τη φθορά του κινητήρα [32].

- Είναι μη τοξικό και βιοαποικοδομήσιμο:

Το βιοντίζελ κατά την καύση του εκπέμπει λιγότερη αιθάλη (σωματίδια), μονοξείδιο του άνθρακα, άκαυστους υδρογονάνθρακες και διοξείδιο του θείου από το πετρέλαιο ντίζελ. Γενικότερα, όταν τα βιοκαύσιμα καίγονται, εκπέμπουν σημαντικά λιγότερο άνθρακα και δημιουργούν λιγότερους ρύπους [30].

- Βελτίωση της ποιότητας του αέρα:

Η χρήση του βιοντίζελ ως καυσίμου μεταφορών έχει τη δυνατότητα να βελτιώσει σημαντικά την ποιότητα του αέρα, ιδιαίτερα σε αστικές περιοχές όπου οι εκπομπές που σχετίζονται με τις μεταφορές

συμβάλλουν σημαντικά στην ατμοσφαιρική ρύπανση. Ένας σημαντικός παράγοντας είναι ότι το βιοντήζελ παράγεται από ανανεώσιμες πρώτες ύλες, όπως η σόγια ή άλλες καλλιέργειες. Αυτές οι καλλιέργειες απορροφούν διοξείδιο του άνθρακα από την ατμόσφαιρα κατά τη διάρκεια της φωτοσύνθεσης, και αυτός ο άνθρακας στη συνέχεια αποθηκεύεται στο φυτό. Όταν οι καλλιέργειες συγκομίζονται και υποβάλλονται σε επεξεργασία για την παραγωγή βιοντήζελ (το οποίο στην συνέχεια καίγεται στους κινητήρες), αυτός ο αποθηκευμένος άνθρακας απελευθερώνεται πίσω στην ατμόσφαιρα, αλλά το καθαρό αποτέλεσμα είναι ότι ο άνθρακας ουσιαστικά ανακυκλώνεται [33].

- Μείωση των επιπτώσεων για την ανθρώπινη υγεία:
Σε σύγκριση με το πετρελαϊκό ντήζελ, το βιοντήζελ παράγει λιγότερες εκπομπές σωματιδίων, τα οποία έχουν συνδεθεί με αναπνευστικές και καρδιαγγειακές παθήσεις. Επιπλέον, το βιοντήζελ έχει χαμηλότερα επίπεδα τοξικών ατμοσφαιρικών ρύπων, όπως το βενζόλιο και οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες, που έχουν συνδεθεί με τον καρκίνο και άλλα προβλήματα υγείας. Ως εκ τούτου, το βιοντήζελ έχει τη δυνατότητα να μειώσει τις αρνητικές επιπτώσεις των εκπομπών από τον τομέα των μεταφορών για την ανθρώπινη υγεία [31].
- Μείωση της εξάρτησης από το πετρέλαιο – τοπική παραγωγή:
Η ικανότητα παραγωγής βιοντήζελ σε τοπικό επίπεδο μπορεί να έχει σημαντικό αντίκτυπο στην ανεξαρτησία μιας χώρας από το εισαγόμενο ντήζελ. Με την παραγωγή βιοντήζελ από τοπικές καλλιέργειες, μια χώρα μπορεί να μειώσει την εξάρτησή της από τις ξένες εισαγωγές πετρελαίου και να αυξήσει την ενεργειακή της επάρκεια αφού, η τοπική παραγωγή βιοντήζελ μπορεί να δημιουργήσει νέες θέσεις εργασίας, να τονώσει την οικονομική ανάπτυξη στις αγροτικές περιοχές και να μειώσει τον αρνητικό

αντίκτυπο που μπορεί να έχουν στην οικονομία τα ακριβά εισαγόμενα καύσιμα [34].

- Ασφαλέστερο στην μεταφορά και τον χειρισμό:

Σύμφωνα με τις προδιαγραφές που προβλέπονται από τον EN 14214, το σημείο ανάφλεξης του βιοντήζελ πρέπει να είναι πάνω από 101 °C, γεγονός που το καθιστά λιγότερο εύφλεκτο καύσιμο από το συμβατικό ντήζελ, του οποίου το σημείο ανάφλεξης πρέπει να είναι πάνω από 55 °C. Έτσι, το βιοντήζελ καθίσταται ασφαλέστερο ως προς την αποθήκευση, την μεταφορά και γενικότερα τον χειρισμό του, σε σύγκριση με το συμβατικό ντήζελ [35].

Μειονεκτήματα

Εικόνα 1-6: Μειονεκτήματα χρήσης του βιοντήζελ [47].



- Ακριβότερο καύσιμο:

Το κόστος παραγωγής του βιοντήζελ είναι γενικά υψηλότερο από το πετρελαϊκό ντήζελ λόγω του υψηλού κόστους των πρώτων υλών, της επεξεργασίας και της μεταφοράς. Ωστόσο, το κόστος χρήσης του ως καύσιμο εξαρτάται και από παράγοντες όπως τα οικονομικά κίνητρα που δίνονται από κάθε χώρα, την τιμή του αργού πετρελαίου και τους περιβαλλοντικούς κανονισμούς [40].

- Αρνητική επίδραση στη διαθεσιμότητα τροφίμων και νερού:
 Η παραγωγή βιοντήζελ χρησιμοποιώντας καλλιέργειες τροφίμων όπως το καλαμπόκι και η σόγια, είναι πιθανόν να αλλάξει σημαντικά την πρόσβαση του κόσμου σε οικονομικά προσιτά τρόφιμα. Η οικονομία προσφοράς και ζήτησης του βιοντήζελ -- για παράδειγμα αύξηση της ζήτησης για καλαμπόκι, και το καλαμπόκι γίνεται πιο ακριβό -- μπορεί να αποτελέσει απειλή για την τροφική ασφάλεια ορισμένων περιοχών ή την πρόσβαση σε οικονομικά προσιτά θρεπτικά τρόφιμα για τον πληθυσμό της περιοχής. Ταυτόχρονα, καθώς οι απαιτήσεις σε νερό για καλλιέργειες που παράγουν βιοντήζελ μπορεί να αυξηθούν, θα αυξηθεί και η πίεση που ασκείται στους τοπικούς υδάτινους πόρους [41].
- Αύξηση χρήσης λιπασμάτων:
 Τόσο στις καλλιέργειες για βιοντήζελ, όσο και στις καλλιέργειες τροφίμων ή στους κήπους, γίνεται χρήση λιπασμάτων με σκοπό την γρηγορότερη ανάπτυξη των φυτών. Ωστόσο, καθώς αυτά συνήθως περιέχουν άζωτο ή φώσφορο, μπορεί να έχουν σοβαρές επιπτώσεις στο οικοσύστημα αφού η υπερβολική χρήση ή η ακατάλληλη εφαρμογή τους μπορεί να αφήσει περίσσεια λιπάσματος στο έδαφος, το οποίο στη συνέχεια ξεπλένεται μέσω των περιφερειακών λεκανών απορροής και σε ρέματα, ποτάμια, λίμνες και υπόγειους υδροφορείς, με αποτέλεσμα την ρύπανση τους [41].
- Δυσκολία χρήσης σε χαμηλές θερμοκρασίες:
 Ένα ακόμη μειονέκτημα του βιοντήζελ είναι η ασυμβατότητά του με τις ψυχρές περιοχές. Οι ερευνητές ανακάλυψαν ότι το βιοντήζελ μετατρέπεται σε gel σε χαμηλές θερμοκρασίες και οι οδηγοί δεν μπορούν να το χρησιμοποιήσουν ως πηγή καυσίμου σε ψυχρά κλίματα. Μπορεί ωστόσο να χρησιμοποιηθεί σε μίγματα με το

πετρελαϊκό ντήζελ με σκοπό την αντιμετώπιση του προβλήματος [42,43].

- Περισσότερες εκπομπές NOx :

Το βιοντήζελ εκπέμπει περισσότερα οξειδία του αζώτου (NOx) από το πετρελαϊκό ντήζελ. Τα οξειδία αυτά είναι από τα αέρια που συμβάλουν για το σχηματισμό αιθαλομίχλης και όζοντος. Μόλις διαλυθούν στην υγρασία της ατμόσφαιρας, προκαλείται το φαινόμενο της όξινης βροχής [43,44].

- Αύξηση της μονοκαλλιέργειας:

Η παραγωγή βιοντήζελ έχει συνδεθεί με την άνοδο της μονοκαλλιέργειας, που είναι η πρακτική της καλλιέργειας ενός μόνο είδους σε μια μεγάλη έκταση γης. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι οι καλλιέργειες που χρησιμοποιούνται ως πρώτη ύλη για την παραγωγή βιοντήζελ, όπως η σόγια και το φοινικέλαιο, καλλιεργούνται συχνά σε μεγάλες εκτάσεις για να επιτευχθούν οικονομίες κλίμακας και να αυξηθούν οι αποδόσεις. Ωστόσο, αυτή η πρακτική μπορεί να οδηγήσει σε αρνητικές περιβαλλοντικές επιπτώσεις, συμπεριλαμβανομένης της υποβάθμισης του εδάφους, της απώλειας βιοποικιλότητας και της αυξημένης ευαισθησίας στα παράσιτα [41,45].

- Διαφορές στην ποιότητα του παραγόμενου βιοντήζελ:

Η παραγωγή βιοντήζελ περιλαμβάνει τη χρήση διαφόρων καλλιεργειών βιοκαυσίμων. Έτσι, το βιοκαύσιμο που προκύπτει παρουσιάζει διακυμάνσεις ως προς την ικανότητα παραγωγής ενέργειας κατά την καύση του λόγω διακυμάνσεων στις πρώτες ύλες και στις διαδικασίες μετατροπής τους σε βιοντήζελ [43].

- Χρήση σε κινητήρες συμβατικού ντήζελ ως έχει:
Όσον αφορά τη χρήση του σε κινητήρες ντήζελ, το βιοντήζελ έχει συνήθως υψηλότερο ιξώδες από το συμβατικό ντήζελ, γεγονός το οποίο μπορεί να οδηγήσει σε απόφραξη των μπεκ ψεκασμού καυσίμου, των φίλτρων και των αντλιών καθώς και σε μειωμένη απόδοση του κινητήρα. Επιπλέον, το βιοντήζελ μπορεί να περιλαμβάνει ακαθαρσίες ή ρύπους που μπορεί να προκαλέσουν διάβρωση των εξαρτημάτων του κινητήρα ή δυσλειτουργίες του συστήματος καυσίμου. Τέλος, το βιοντήζελ μπορεί να υποβαθμιστεί με την πάροδο του χρόνου, ιδιαίτερα παρουσία υγρασίας, η οποία μπορεί να οδηγήσει στον σχηματισμό ιζημάτων, στην αύξηση του μικροβιακού φορτίου και σε μπλοκαρίσματα στο σύστημα καυσίμου [3].

1.5 Μικροβιακή Ανάπτυξη

1.5.1 Γενικά

Η μικροβιακή επιμόλυνση αναφέρεται στην παρουσία μικροοργανισμών όπως βακτήρια, μύκητες και ζυμομύκητες στα συστήματα καυσίμων. Αυτοί οι μικροοργανισμοί μπορούν να αναπτυχθούν και να αναπαραχθούν γρήγορα υπό ορισμένες συνθήκες, οδηγώντας στο σχηματισμό βιοφίλμ και στην παραγωγή άλλων παραπροϊόντων που μπορεί να προκαλέσουν ζημιά στην υποδομή και τον εξοπλισμό συστημάτων καυσίμων. Είναι ένα πολύ γνωστό πρόβλημα στη βιομηχανία πετρελαίου και μπορεί να εμφανιστεί σε μια σειρά καυσίμων, συμπεριλαμβανομένου του ντήζελ, της βενζίνης, των αεροπορικών καυσίμων και του βιοντήζελ. Ωστόσο, συναντάται συχνότερα στα καύσιμα ντήζελ/βιοντήζελ σε σύγκριση με άλλους τύπους καυσίμων, όπως για παράδειγμα η βενζίνη, καθώς αυτά παρέχουν ένα ιδανικό περιβάλλον για μικροβιακή ανάπτυξη λόγω της υψηλότερης περιεκτικότητας σε υγρασία και της παρουσίας οργανικής ύλης. Αποτέλεσμα του φαινομένου είναι οι σημαντικές οικονομικές απώλειες, το αυξημένο κόστος συντήρησης, η εμφάνιση κινδύνων για την ασφάλεια, καθώς και η περιβαλλοντική ρύπανση [48].

Εικόνα 1-7: Παραδείγματα επιμόλυνσης δεξαμενών καυσίμων [48].



Η μικροβιακή ανάπτυξη στα καύσιμα αποτελεί αντικείμενο συζήτησης για τη βιομηχανία εδώ και πολλά χρόνια. Μερικά στοιχεία μικροβιακής δραστηριότητας στα καύσιμα χρονολογούνται, το 1939, όταν αέρια βακτήρια προκάλεσαν έκρηξη σε δεξαμενή κηροζίνης, την δεκαετία του 1950, όταν η παρουσία βακτηρίων σε αεροπορικά καύσιμα προκάλεσε σειρά από βλάβες σε αντλίες καυσίμων αεροσκαφών αλλά και φραγή φίλτρων, το 1958, με την πτώση αεροσκάφους από φραγή φίλτρου καυσίμου, αλλά και αργότερα, τις δεκαετίες 1960, 1970, 1980, 1990 κατά τις οποίες συνέχισαν να καταγράφονται προβλήματα σε συστήματα καυσίμων όπως διαβρώσεις και βλάβες σε δεξαμενές αποθήκευσης, με εξαίρεση τα αεροπορικά καύσιμα στα οποία τα περιστατικά άρχισαν να ελαττώνονται μετά την δεκαετία του 1980 λόγω της ανάπτυξης και βελτίωσης των έως τότε μεθόδων και την εφαρμογή αυστηρότερων μέτρων ελέγχου ποιότητας, συμπεριλαμβανομένης της τήρησης των προτύπων και των αυστηρών διαδικασιών χειρισμού των καυσίμων. Οι προμηθευτές αεροπορικών καυσίμων ακολούθησαν ακόμη πιο αυστηρές προδιαγραφές σε σύγκριση με το παρελθόν και διενεργούσαν συνεχώς ενδεδειγμένους ποιοτικούς ελέγχους για να διασφαλίσουν ότι τα καύσιμα είναι απαλλαγμένα από ρύπους, συμπεριλαμβανομένων των μικροοργανισμών [49]. Όσο αφορά την αλυσίδα εφοδιασμού των χερσαίων και θαλάσσιων μεταφορών, παρά τον αριθμό των περιστατικών που είχαν αναφερθεί καθώς και τη συσσωρευμένη εμπειρία του κλάδου των καυσίμων αεροπορίας, δεν δόθηκε η αντίστοιχη προσοχή σε πρώιμα στάδια, γεγονός που οδήγησε σε αύξηση των δυσμενών επιπτώσεων της μικροβιακής επιμόλυνσης, ιδίως μετά την εισαγωγή διαφοροποιημένων καυσίμων [50].

Οι μικροοργανισμοί που βρίσκονται στα καύσιμα είναι διάφοροι και ποικίλλουν ανάλογα με πολλούς παράγοντες όπως ο τύπος καυσίμου, οι συνθήκες αποθήκευσης και περιβαλλοντικοί παράγοντες. Αυτοί που βρίσκονται στο πετρελαϊκό ντήζελ, το βιοντήζελ και τα μείγματά τους μπορεί να διαφέρουν πολύ, καθώς όπως αναφέρουν οι περισσότεροι από τους ερευνητές σχεδόν όλες οι παραλλαγές μικροοργανισμών, δηλαδή βακτήρια, μύκητες και ζυμομύκητες, μπορούν να βρεθούν στα καύσιμα αυτά [51].

Πίνακας 1-3: Τυπικοί μικροοργανισμοί που ανιχνεύονται σε δεξαμενές αποθήκευσης ντήζελ και βιοντήζελ [51].

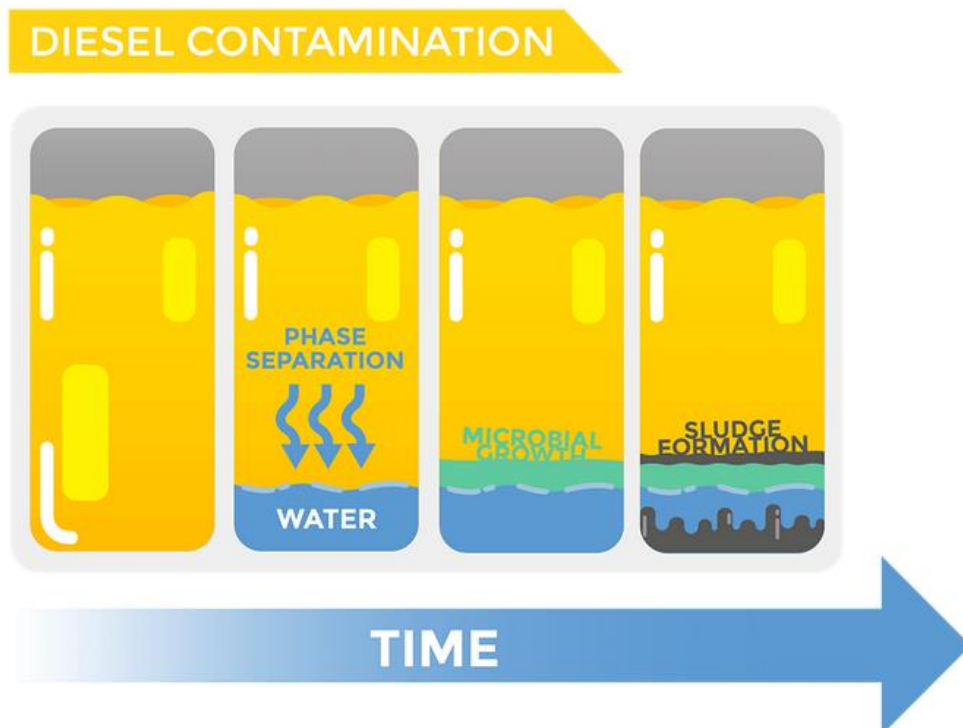
| | Ντήζελ | Μείγματα ντήζελ - βιοντήζελ |
|-------------|---|---|
| Βακτήρια | Sulfate reducing bacteria (SRB), Flavobacterium, Acinetobacter, and Micrococcus | Actinetobacter, Bacillus sp., Clostridium sporogenes, Flavofacterium diffusum, Micrococcus sp., Pseudomonas sp., Pseudomonas aeruginosa, Serratia marcescens, Sarcina sp., Hydrogenomonas sp., Clostridium sp., Gordonia sp. |
| Ζυμομύκητες | Candida, Saccharomyces, Torula, Hansenula | Candida sp., Candida famata, Candida lipolytica, Candida silvicola, Candida tropicalis, Rhodotorula sp., Saccharomyces sp. |
| Μύκητες | Hormoconis resinae, Cladosporium resinae, Aspergillus, Penicillium, Fusarium and Botrytis | Acremonium sp., Aspergillus sp., Aspergillus fumigatus, Cladosporium sp., Fusarium oxysporum, Penicillium sp., Penicillium citrinum, Penicillium funiculosm, Trichiderma sp., Paecilomyces sp., Moniliella and Byssochlamys, Phyla sp., Pseudallescheria boydii., Hormoconis resinae, Fusarium sp., Aureobasidium pullulans, Moniliella wahieum, Byssochlamys nivea, etc. |

1.5.2 Προέλευση

Το ντήζελ περιέχει όλα τα στοιχεία που χρειάζονται οι μικροοργανισμοί για να αναπτυχθούν, χωρίς ωστόσο το γεγονός αυτό, να αποτελεί επαρκή αιτία για την εμφάνισή τους. Σε πρώτο στάδιο ένας μεγάλος αριθμός μικροβίων μπορεί να εισέλθει στα καύσιμα μέσω του θαλασσινού νερού με το οποίο πληρώνονται οι δεξαμενές έρματος των πλοίων. Επιπλέον, είναι πιθανό οι μικροοργανισμοί να εισέλθουν υπό την μορφή σταγονιδίων νερού, ή αιωρούμενων σωματιδίων, μέσω των αεραγωγών που υπάρχουν στις δεξαμενές των διυλιστηρίων. Ωστόσο, παρότι πρακτικά τα τελικά προϊόντα που παράγονται από τις διεργασίες διύλισης είναι αποστειρωμένα λόγω των υψηλών θερμοκρασιών που αναπτύσσονται, ο κίνδυνος μικροβιακής επιμόλυνσης, παραμένει υπαρκτός, καθώς εξαρτάται από τον χρόνο και τις συνθήκες αποθήκευσης, διακίνησης, και χειρισμού των καυσίμων [50]. Πέραν των δεξαμενών αποθήκευσης και μεταφοράς, οι αγωγοί μεταφοράς καυσίμων είναι μια ακόμη τυπική πηγή ρύπανσης. Οι εύκαμπτοι σωλήνες μπορεί να συσσωρεύσουν νερό και βρωμιά όταν δεν χρησιμοποιούνται, με αποτέλεσμα όταν επαναχρησιμοποιηθούν, αυτό το υλικό να μετακινείται συχνά μαζί με το καύσιμο. Επιπλέον, όταν χρησιμοποιούνται για τη μεταφορά μολυσμένων καυσίμων σε δεξαμενές που δεν έχουν ακόμη μολυνθεί, οι αγωγοί μεταφοράς αυτών των καυσίμων μπορεί επίσης να μολυνθούν [3].

Αναλυτικότερα, οι αιτίες της μικροβιακής επιμόλυνσης στο ντήζελ δεν περιορίζονται μόνο σε τεχνικά ελαττώματα στις κατασκευές, αλλά οφείλονται συνήθως και στην υψηλή συγκέντρωση νερού και θρεπτικών ουσιών, στις κατάλληλες συνθήκες θερμοκρασίας και pH, αλλά και στην προσθήκη του βιοντήζελ που συμβάλλει καταλυτικά στην ανάπτυξη μικροοργανισμών.

Εικόνα 1-8: Μικροβιακή επιμόλυνση ντίζελ [52].



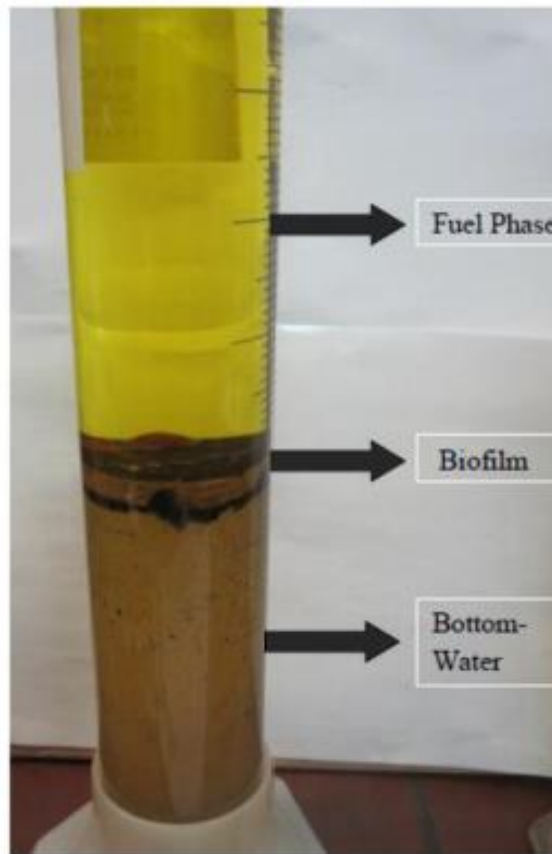
Η ανάμειξη του ντίζελ με το βιοντίζελ, αποτελεί μια από τις κυριότερες αιτίες επιμόλυνσης, επειδή το βιοντίζελ είναι πιο επιρρεπές στην μικροβιακή ανάπτυξη. Λόγω του βιοαποδομήσιμου χαρακτήρα του και της υψηλότερης περιεκτικότητάς του σε οξυγόνο και υγρασία, που αποτελούν θρεπτικά συστατικά για τους μικροοργανισμούς, το βιοντίζελ συνεισφέρει ουσιαστικά στην όξυνση του φαινομένου [5]. Επιπλέον, η θερμοκρασία και το pH είναι δύο κρίσιμοι παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη και την επιβίωση των μικροβίων στο ντίζελ. Το συνηθέστερο θερμοκρασιακό εύρος για την ανάπτυξη των περισσότερων μικροοργανισμών κυμαίνεται συνήθως μεταξύ 0°C και 35°C, με την πιο ευνοϊκή θερμοκρασία να βρίσκεται περίπου στους 25°C με 35°C. Ομοίως, το pH του καυσίμου έχει σημαντικό αντίκτυπο στη μικροβιακή ανάπτυξη, με τα περισσότερα μικρόβια που μολύνουν το ντίζελ να ευδοκιμούν σε ένα εύρος pH μεταξύ 5,5 και 8,5. Ένα σύστημα καυσίμου που έχει υψηλότερη θερμοκρασία και ουδέτερο έως ελαφρώς όξινο pH δημιουργεί ένα ιδανικό περιβάλλον για την ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό των μικροοργανισμών [50]. Ταυτόχρονα, το νερό, πέραν της δυνατότητας του να εισάγει τους μικροοργανισμούς στα συστήματα καυσίμων όπως προαναφέρθηκε, παίζει καθοριστικό ρόλο και στην ανάπτυξη των μικροβίων στα καύσιμα. Οι μικροοργανισμοί απαιτούν νερό για να ζήσουν και να

αναπαραχθούν, και ακόμη και μια μικρή ποσότητα νερού μπορεί να υποστηρίξει την ανάπτυξή τους. Το νερό μπορεί να εισέλθει στα καύσιμα κατά τη διαδικασία παραγωγής, αποθήκευσης ή μεταφοράς, και μπορεί επίσης να εισαχθεί μέσω συμπύκνωσης, διαρροών ή μολυσμένων προσθέτων. Όταν υπάρχει νερό στα καύσιμα, δημιουργείται ένα περιβάλλον όπου τα μικρόβια μπορούν να ευδοκιμήσουν. Λειτουργεί ως μέσο μεταφοράς για τα θρεπτικά συστατικά και η παρουσία του μπορεί να αυξήσει τη διαθεσιμότητα των θρεπτικών ουσιών που χρειάζονται τα μικρόβια για να αναπτυχθούν. Επιπλέον, μπορεί να οδηγήσει στο σχηματισμό ενός στρώματος μεταξύ του καυσίμου και του αέρα, παρέχοντας ένα περιβάλλον χωρίς οξυγόνο που προάγει την ανάπτυξη αναερόβιων βακτηρίων. Συνοπτικά, το νερό είναι ένας ακόμη κρίσιμος παράγοντας για την ανάπτυξη μικροβίων στα καύσιμα [3].

1.5.3 Επιπτώσεις

Η μικροβιακή επιμόλυνση, όπως κάθε ανεπιθύμητη βιολογική δραστηριότητα, συνοδεύεται από διάφορες από επιπτώσεις. Οι επιπτώσεις αυτές μπορούν να γίνουν αντιληπτές ποικιλοτρόπως, καθώς κάποιες μπορεί να εμφανιστούν σε μικρό χρονικό διάστημα, με αποτέλεσμα να ανιχνευθούν σε πρώιμα στάδια και να μην προκαλέσουν μεγάλα προβλήματα, ενώ άλλες μπορεί να λάβουν μέρος σε μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα, με τα προβλήματα που δημιουργούν να είναι συνήθως δυσκολότερα αναστρέψιμα [5]. Κατά την ανάπτυξη των μικροβίων στα καύσιμα παρατηρείται η δημιουργία ενός βιοφίλμ, δηλαδή μιας βιομάζας αποτελούμενης από μικροοργανισμούς, προϊόντα του μεταβολισμού τους (βιοπολυμερή), νερό καθώς και παρελκόμενες οργανικές και ανόργανες ύλες, που συσσωρεύονται στην διεπαφή καυσίμου-νερού [56]. Πέραν του σχηματισμού βιοφίλμ, είναι πιθανό να παρατηρηθούν λασπώδεις επικαθήσεις στον πυθμένα δεξαμενών, σχηματισμοί ιζημάτων, αλλά και θόλωση στην φάση καυσίμου, συνοδευόμενη από δυσάρεστες οσμές [50]. Η θολότητα που εμφανίζει η φάση καυσίμου, οφείλεται συνήθως σε διάσπαρτα στερεά σωματίδια τα οποία είναι κυρίως συσσωματώματα μικροοργανισμών ή αλλιώς βιοπολυμερή, τα οποία προέρχονται από την διαδικασία αποδόμησης του καυσίμου, τον σχηματισμό του βιοφίλμ και τις επικαθήσεις [53].

Εικόνα 1-9: Σχηματισμός βιοφίλμ στην διεπαφή καυσίμου-νερού [54].



Αποτέλεσμα των παραπάνω είναι σαφώς η ποιοτική υποβάθμιση του καυσίμου, ο σχηματισμός μυκητολάσπης, και στην συνέχεια η εμφάνιση διαφόρων προβλημάτων, στα συστήματα αποθήκευσης και διακίνησης καυσίμων, στους κινητήρες των οχημάτων αλλά και σε άλλα εξαρτήματα τους. Οι μεταβολές στις φυσικοχημικές ιδιότητες του καυσίμου, είναι μία από τις βραχυπρόθεσμες επιπτώσεις της μικροβιακής επιμόλυνσης. Αναλυτικότερα, καθώς λαμβάνει χώρα η σταδιακή αποδόμηση του καύσιμου, η ολοένα αυξανόμενη συγκέντρωση συσσωμάτων των προϊόντων αποδόμησης, συμβάλλει στην αύξηση της πυκνότητας και του ιξώδους, με αποτέλεσμα οι συγκεκριμένες μεταβολές να δυσκολεύουν της μεταφορές μέσω των αγωγών διακίνησης [53].

Πίνακας 1-4: Προβλήματα/Επιπτώσεις μικροβιακής επιμόλυνσης των καυσίμων [50].

| Προβλήματα/Επιπτώσεις | Κύριοι τύποι μικροοργανισμών |
|---|--|
| Απόφραξη φίλτρων, βαλβίδων, σωληνώσεων και λάθος ενδείξεις από όργανα ελέγχου του συστήματος καυσίμου | Μύκητες, βακτήρια παραγωγής πολυμερών |
| Υψηλή περιεκτικότητα σε νερό | Όλα |
| Σχηματισμός λασποειδών επικαθίσεων | Όλα |
| Παραγωγή επιφανειοδραστικών ουσιών | Μύκητες και αερόβια βακτήρια |
| Διάβρωση δεξαμενών αποθήκευσης και σωληνώσεων | Μύκητες και αναερόβια βακτήρια |
| Παραγωγή αιωρούμενων στερεών μέσα στο καύσιμο | Όλα |
| Αποικοδόμηση υδρογονανθράκων | Μύκητες και αερόβια βακτήρια |
| Μείωση χρόνου ζωής φίλτρων | Όλα |
| Δυσλειτουργία συστήματος ψεκασμού | Αερόβια βακτήρια και μύκητες |
| Αυξημένη περιεκτικότητα θείου στο καύσιμο | Βακτήρια αναγωγής θείου (SRB) |
| Μείωση χρόνου ζωής μηχανικών εξαρτημάτων | Αδιευκρίνιστο |
| Διείσδυση στην προστατευτική επένδυση των δεξαμενών | Μύκητες |
| Προβλήματα υγείας | Βακτήρια που παράγουν ενδοτοξίνες, SRB |

Η μικροβιακή επιμόλυνση στα καύσιμα μπορεί να οδηγήσει επίσης στην εμφάνιση φαινομένων διάβρωσης των δεξαμενών αποθήκευσης και των σωληνώσεων. Κατά την αποθήκευση και διακίνηση επιμολυσμένων καυσίμων, δημιουργείται ένα είδος βιοφίλμ αποτελούμενο από βακτήρια τύπου SRB, πάνω στις μεταλλικές επιφάνειες με τις οποίες έρχεται σε επαφή το καύσιμο. Τα παραπάνω βακτήρια μπορούν να διαβρώσουν μεταλλικές επιφάνειες, οδηγώντας σε βλάβες, διαρροές, και άλλες αστοχίες των συστημάτων.

Το βιοντήζελ ειδικότερα είναι πιο επιρρεπές σε μικροβιακή επιμόλυνση και επακόλουθη διάβρωση λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς του σε οξυγόνο και της τάσης του στη συσσώρευση νερού. Η διάβρωση που προκαλείται από μικρόβια αποτελεί ιδιαίτερη πρόκληση σε μεγάλες εγκαταστάσεις

αποθήκευσης καυσίμων, όπου η κλίμακα της λειτουργίας καθιστά δύσκολη τη διατήρηση της καθαριότητας και την πρόληψη της μόλυνσης [5,55].

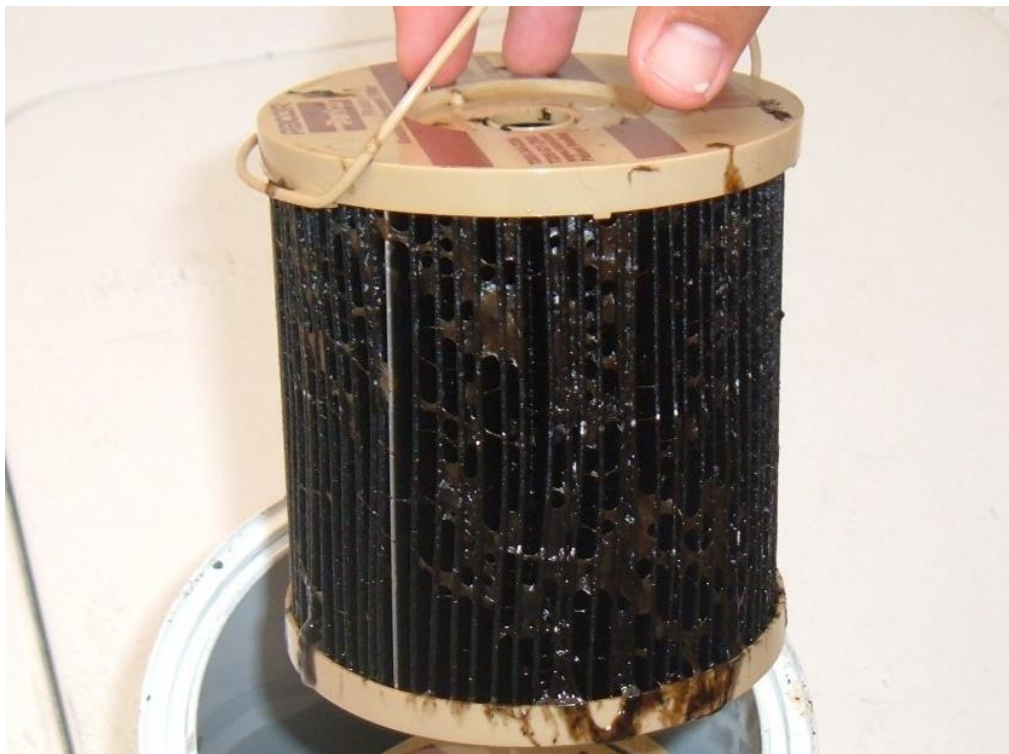
Εικόνα 1-10: Διάβρωση σε εξαρτήματα του συστήματος διακίνησης και αποθήκευσης [53].



Ένα ακόμη σημαντικό ζήτημα που προκύπτει ως συνέπεια της ανάπτυξης μικροοργανισμών, είναι η απόφραξη φίλτρων, βαλβίδων και σωληνώσεων στα συστήματα καυσίμων. Οι μικροοργανισμοί εναποθέτουν βιομεμβράνες και επιβλαβείς ουσίες στα φίλτρα και τις βαλβίδες, μειώνοντας έτσι την απόδοσή τους και αυξάνοντας την αντίσταση στη ροή του καυσίμου. Επιπλέον, η παρουσία μικροβίων μπορεί να προκαλέσει λανθασμένες ενδείξεις στα όργανα ελέγχου, όπως οι μετρητές καυσίμου, με αποτέλεσμα να προκαλεί

σύγχυση στον χειριστή. Παράλληλα, μειώνεται η διάρκεια ζωής των εξαρτημάτων λόγω της διάβρωσης και της φθοράς [58].

Εικόνα 1-11: Επιμολυσμένο φίλτρο αντλίας καυσίμου από μικροοργανισμούς [57].



Η δυσλειτουργία του συστήματος εισαγωγής καυσίμου είναι ένα άλλο πιθανό πρόβλημα που προκαλείται από μικροβιακή επιμόλυνση, καθώς οι μικροοργανισμοί μπορεί να αποτελέσουν εμπόδιο στην ομαλή εισαγωγή του καυσίμου στον κινητήρα. Όταν το φαινόμενο εμφανίζεται σε κινητήρα αυτοκινήτου, οι συνέπειες μπορεί να είναι απλώς ενοχλητικές, αλλά όταν συμβαίνει σε κινητήρα αεροσκάφους κατά την πτήση ή σε κινητήρα ντήζελ πλοίων που λειτουργεί σε δύσκολες συνθήκες, το αποτέλεσμα μπορεί να είναι καταστροφικό [59].

Παρατηρείται ότι, από την ύπαρξη του φαινομένου της ανάπτυξης μικροοργανισμών μπορεί να επέλθουν σοβαρά οικονομικά ζητήματα για όσους εμπλέκονται στην εφοδιαστική αλυσίδα καυσίμων, και να υπάρξουν ταυτόχρονα επιπτώσεις για το περιβάλλον (π.χ. από τυχόν διαρροές καυσίμων) [50].

Έτσι, πρωτίστως η αποτροπή, αλλά και η αντιμετώπιση της μικροβιακής επιμόλυνσης είναι ζωτικής σημασίας για τη διασφάλιση της σωστής λειτουργίας των συστημάτων καυσίμων και την πρόληψη ζημιών στον εξοπλισμό.

1.5.4 Τρόποι Πρόληψης και Αντιμετώπισης

Τα μέτρα πρόληψης και ελέγχου της μικροβιακής επιμόλυνσης διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στη διατήρηση της ποιότητας των καυσίμων, στην προστασία του εξοπλισμού και στη διασφάλιση της λειτουργίας των συστημάτων καυσίμων.

Υπάρχουν τέσσερις κύριοι τρόποι πρόληψης και ελέγχου της μικροβιακής επιμόλυνσης :

- Μηχανική.
- Παρακολούθηση.
- Συντήρηση.
- Θεραπεία

Σκοπός των παραπάνω πρακτικών είναι η μείωση των περιστατικών ανάπτυξης μικροβιακού φορτίου στα καύσιμα, και κατά συνέπεια ο περιορισμός των επιπτώσεων από την εμφάνιση του.

Μηχανική

Οι συνθήκες για μικροβιακή επιμόλυνση και η ευκολία με την οποία απομακρύνονται οι ανεπιθύμητες ουσίες εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από τη λειτουργία και το σχεδιασμό των δεξαμενών. Έτσι, ο σχεδιασμός της δεξαμενής καυσίμου αλλά και του συστήματος στο σύνολό του, διαδραματίζει ζωτικό ρόλο στην πρόληψη της μόλυνσης. Ένα από τα βασικά ζητήματα είναι να διασφαλιστεί ότι το χαμηλότερο σημείο των δεξαμενών είναι εξοπλισμένο με βαλβίδα αποστράγγισης, διευκολύνοντας έτσι την απομάκρυνση του νερού και των ιζημάτων που συσσωρεύονται στο κάτω μέρος τους [60]. Γενικότερα, προτιμώνται δεξαμενές με διαμορφώσεις κωνικού πυθμένα καθώς καθιστούν ευκολότερη την απομάκρυνση της μυκητολάσπης και του πυθμένα νερού.

Ανά τακτά χρονικά διαστήματα πρέπει να υπόκεινται σε έλεγχο και

συντήρηση, ενώ ταυτόχρονα θα πρέπει να είναι σωστά διαμορφωμένες, ώστε να διευκολύνεται η επιθεώρηση και ο καθαρισμός από το προσωπικό.

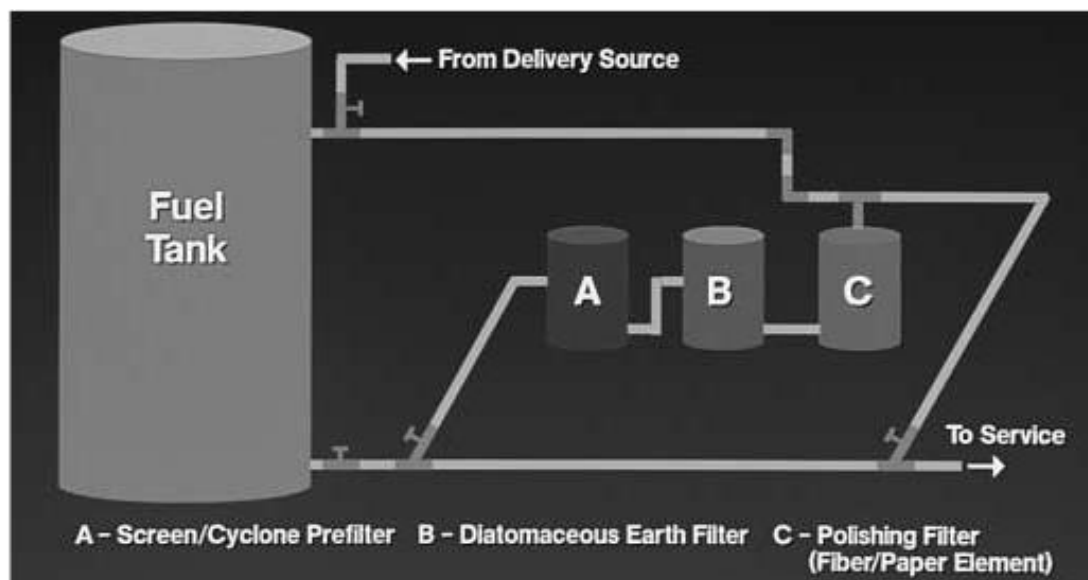
Εικόνα 1-12: Εσωτερικό δεξαμενής καυσίμου [66].



Επιπλέον, λόγω της χημικής σύστασης των προϊόντων που πρόκειται να αποθηκευτούν, είναι πολύ σημαντικό να λαμβάνονται υπόψη και τα υλικά που πρόκειται να χρησιμοποιηθούν για την κατασκευή των δεξαμενών. Τα συνηθέστερα υλικά είναι ο μαλακός (mild steel) και ανοξείδωτος χάλυβας, ενώ στο εσωτερικό παρατηρείται συχνά η επένδυση με πολυουρεθάνη ή εποξειδικό (epoxy) σύστημα δύο υλικών [3]. Τα ανώμαλα σημεία στις επιφάνειες, όπως είναι οι ραφές συγκόλλησης, αποτελούν συνήθως σημεία έναρξης για τα φαινόμενα διάβρωσης, έτσι, πέραν του υλικού που επιλέγεται για την εσωτερική επένδυση, είναι σημαντικό να εξασφαλίζεται στην εσωτερική πλευρά των δεξαμενών χαμηλή έως μηδενική τραχύτητα [53]. Ένα ακόμη μέτρο πρόληψης είναι η εγκατάσταση φίλτρων και συστημάτων φιλτραρίσματος. Ιδιαίτερα σημαντική είναι η εγκατάσταση φίλτρων στις εισόδους των αεραγωγών εξαερισμού των δεξαμενών, για να αποτραπεί η είσοδος σωματιδίων στο σύστημα. Ταυτόχρονα, οι σωληνώσεις μεταφοράς θα πρέπει να είναι εξοπλισμένες με εξαρτήματα για την ενσωμάτωση εξοπλισμού καθαρισμού των καυσίμων, καθώς και παγίδες νερού που θα μειώσουν τις

πιθανότητες μεταφοράς ακάθαρτου υγρού. Τέλος, σε περίπτωση που οι τεχνικές αυτές αποδειχθούν ανεπαρκείς, θα μπορούσε να εγκατασταθεί σύστημα φιλτραρίσματος καυσίμου αποτελούμενο από διάφορα στάδια [60].

Διάγραμμα 1-5: Σύστημα φιλτραρίσματος καυσίμου [59].

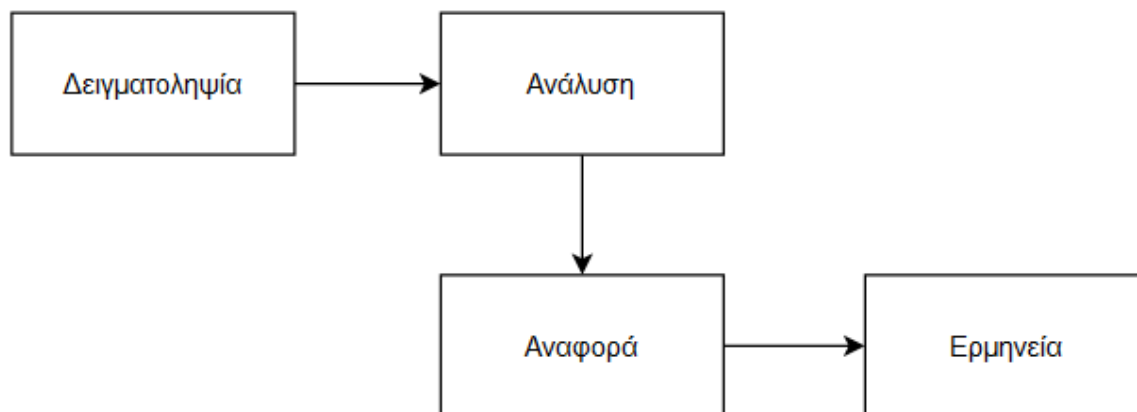


Παρακολούθηση

Η παρακολούθηση των συστημάτων καυσίμου διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στην πρόληψη της μικροβιακής ανάπτυξης. Με την εφαρμογή αποτελεσματικών πρακτικών παρακολούθησης, όπως η δειγματοληψία και ανάλυση ανά τακτά χρονικά διαστήματα σε διάφορα σημεία της εφοδιαστικής αλυσίδας, τα πιθανά ζητήματα που αφορούν την μικροβιακή επιμόλυνση στο σύστημα μπορούν να εντοπιστούν και να αντιμετωπιστούν έγκαιρα. Η τακτική παρακολούθηση επιτρέπει την ανίχνευση τυχόν αλλαγών στην ποιότητα του καυσίμου, όπως η παρουσία νερού, ιζημάτων ή μικροβιακής ανάπτυξης. Αυτή η έγκαιρη ανίχνευση επιτρέπει τη λήψη προληπτικών μέτρων, όπως φιλτράρισμα του καυσίμου, επεξεργασία με βιοκτόνα ή καθαρισμό του συστήματος (σωληνώσεις, δεξαμενές, αντλίες κ.α.), για την πρόληψη της ανάπτυξης μικροβίων. Επιπλέον, η παρακολούθηση και στην συνέχεια η έγκαιρη διάγνωση βοηθά στη διασφάλιση της σωστής λειτουργίας των φίλτρων, των βαλβίδων, των σωληνώσεων μεταφοράς και άλλων εξαρτημάτων, τα οποία είναι απαραίτητα για τη διατήρηση της ποιότητας και την ορθή λειτουργία του συστήματος. Συνολικά, ένα ολοκληρωμένο

πρόγραμμα παρακολούθησης του συστήματος καυσίμου, σε συνδυασμό και με τους υπόλοιπους τρόπους πρόληψης και αντιμετώπισης, ενισχύει την ικανότητα εντοπισμού και μετριάσμού παραγόντων που συμβάλλουν στην υποβάθμιση των καυσίμων λόγω της μικροβιακής ανάπτυξης, διατηρώντας τελικά την ποιότητα τους και την απόδοση του συστήματος [60].

Διάγραμμα 1-6: Στάδια προγραμμάτων παρακολούθησης συστήματος καυσίμων [3].

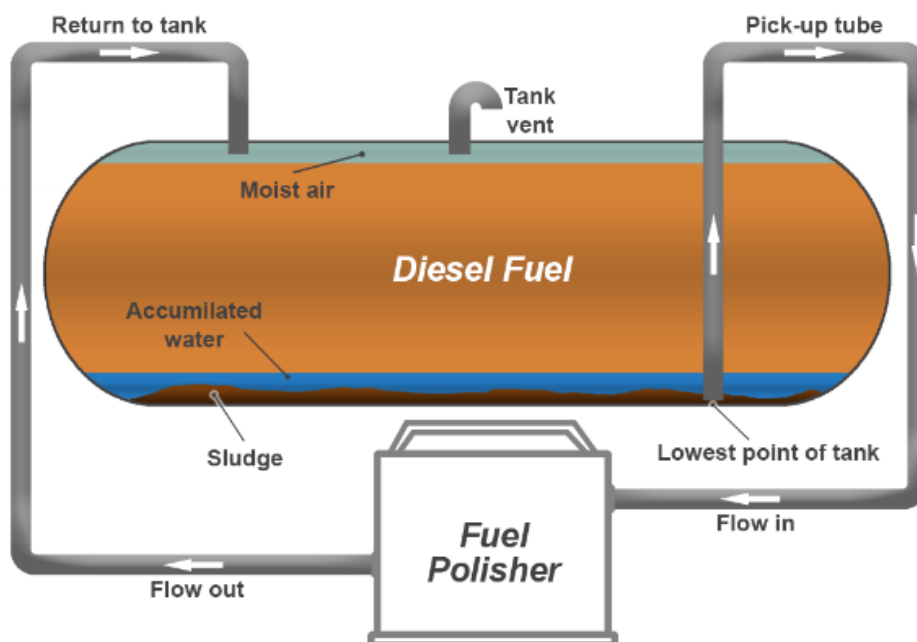


Συντήρηση

Μία από τις αποτελεσματικότερες πρακτικές συντήρησης είναι η ελαχιστοποίηση της επαφής μεταξύ καυσίμου και νερού. Συχνά, αυτό μπορεί να μην είναι εφικτό σε ορισμένα συστήματα, όπως οι δεξαμενές καυσίμων των πλοίων. Ωστόσο, υπάρχουν μέτρα που μπορούν να ληφθούν για τη μείωση της συσσώρευσης νερού, όπως η μόνωση των δεξαμενών, η χρήση διαχωριστών νερού-καυσίμου και η τακτική απομάκρυνση του νερού από το κάτω μέρος της δεξαμενής. Επιπλέον, τα συστήματα που έχουν σχεδιαστεί για την απομάκρυνση του νερού μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την απομάκρυνση σωματιδίων, και της μυκητολάσπης που σχηματίζεται στο καύσιμο. Είναι σημαντικό τα παραπάνω να αφαιρούνται τακτικά και να προγραμματίζεται περιοδικός έλεγχος και καθαρισμός των δεξαμενών. Ταυτόχρονα, η επεξεργασία με χρήση ειδικών πρόσθετων χημικών σκευασμάτων (που στοχεύουν στην αύξηση της οξειδωτικής σταθερότητας του καυσίμου κατά την αποθήκευση και τη γενικότερη αναβάθμιση του καυσίμου) ανά τακτά χρονικά διαστήματα μπορεί να συμβάλει σημαντικά στην

διεύρυνση των χρονικών διαστημάτων μεταξύ διαδοχικών εργασιών συντήρησης.

Εικόνα 1-13: Σύστημα καθαρισμού δεξαμενής καυσίμου [67].



Θεραπεία

Το στάδιο αυτό αφορά ενέργειες που γίνονται μετά τον εντοπισμό ύπαρξης μικροβιακής επιμόλυνσης, με σκοπό την επαναφορά του συστήματος σε αποδοτική λειτουργία, αλλά και του ίδιου του καυσίμου σε εκμεταλλεύσιμη μορφή. Τα παραπάνω μπορούν να επιτευχθούν με την χρήση φυσικών ή χημικών διεργασιών, αλλά και συνδυασμό και των δύο. Αναλυτικότερα, οι φυσικές διεργασίες αφορούν αρχικά, την εξυδάτωση και το φιλτράρισμα του καυσίμου, έως ότου απομακρυνθούν όλα τα αιωρούμενα σωματίδια, και στην συνέχεια, τον σχολαστικό καθαρισμό του εσωτερικού χώρου των δεξαμενών αποθήκευσης, με στόχο την αφαίρεση της συσσωρευμένης λάσπης από το κάτω μέρος και τα τοιχώματα τους. Μειονέκτημα των φυσικών διεργασιών, αποτελεί η χρονική διάρκεια που απαιτείται για την αποκατάσταση, αλλά και το αυξημένο κόστος [53]. Παράλληλα, στις περιπτώσεις όπου χρειάζεται άμεση αντιμετώπιση της μικροβιακής ανάπτυξης, εκτός από τις φυσικές μπορούν να χρησιμοποιηθούν και οι χημικές διεργασίες, η οποίες αφορούν

κυρίως την χρήση συγκεκριμένων προσθέτων, όπως τα βιοκτόνα, με τα οποία είναι δυνατό να καταπολεμηθεί ενεργά η ανάπτυξη και η δραστηριότητα των μικροοργανισμών [59].

Ενώ ο απώτερος στόχος όλων των παραπάνω σταδίων είναι ο μετριασμός και η αντιμετώπιση των κινδύνων που σχετίζονται με την μικροβιακή επιμόλυνση, ο χρόνος, ο σκοπός και η δοσολογία της εφαρμογής βιοκτόνων είναι αυτά που διαφοροποιούν την χρήση τους στα στάδια της πρόληψης και της θεραπείας .

1.5.5 Τρόποι προσδιορισμού μικροβιακού φορτίου

Για τον προσδιορισμό του μικροβιακού φορτίου στο ντήζελ υπάρχουν διάφορες μεθοδολογίες. Δείγματα που είναι ύποπτα μικροβιακής επιμόλυνσης συνήθως υπόκεινται σε οπτική αξιολόγηση, και έλεγχο των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών τους (π.χ. ιξώδες, πυκνότητα, αριθμός οξύτητας, περιεκτικότητα σε νερό, pH φάσης νερού). Ωστόσο, επειδή η υποβάθμιση του ντήζελ λόγω μικροβιακής δραστηριότητας παρουσιάζει ενδείξεις όμοιες με άλλες αιτίες υποβάθμισης του, δημιουργήθηκε η ανάγκη για την ανάπτυξη τεχνικών που θα εστιάζουν άμεσα στην ανίχνευση αλλά και ποσοτικοποίηση της μικροβιακής επιμόλυνσης. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση του μικροβιακού φορτίου αφορούν κυρίως μικροβιολογικούς ελέγχους, και ταξινομούνται συνοπτικά στις εξής κατηγορίες [50]:

- Οι τεχνικές επώασης-καλλιέργειας και απαρίθμησης των αποικιών (CFU, Colony Forming Unit) είναι από τις πιο συχνά χρησιμοποιούμενες τεχνικές για την αξιολόγηση της μικροβιακής επιμόλυνσης στο ντήζελ. Βασίζονται στην παρουσία ενός κατάλληλου θρεπτικού υποστρώματος που επιτρέπει την ανάπτυξη και τον εντοπισμό συγκεκριμένων μικροοργανισμών. Ανάλογα με τους τύπους μικροοργανισμών που αναμένεται ή ζητείται να ανιχνευθούν, υπάρχουν διάφορες παραλλαγές που διατίθενται στην αγορά. Κάθε παραλλαγή μπορεί να προσφέρει διαφορετικά υποστρώματα θρεπτικών συστατικών προσαρμοσμένα στις συγκεκριμένες ανάγκες της εκάστοτε δοκιμής, επιτρέποντας την αξιόπιστη ανίχνευση των μικροοργανισμών

[61]. Από αυτές τις τεχνικές εκείνη που χρησιμοποιείται ως επί το πλείστο για τον προσδιορισμό αερόβιων μικροοργανισμών που περιέχονται στα υγρά καύσιμα είναι η μέθοδος Thixotropic Gel Culture.

Εικόνα 1-14: Παράδειγμα ανίχνευσης μικροβιακής επιμόλυνσης με την μέθοδο Thixotropic Gel Culture [53].

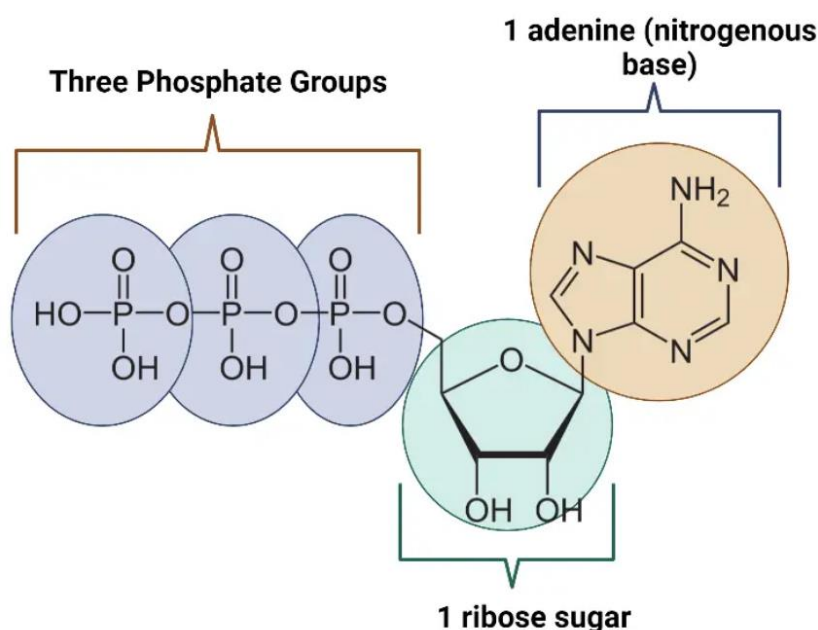


- Οι τεχνικές του μικροσκοπίου χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση μικροβιακής επιμόλυνσης σε δείγματα καυσίμων, παίζοντας κρίσιμο ρόλο στην εξέταση, την ταυτοποίηση και, σε ορισμένες περιπτώσεις, τον προσδιορισμό του αριθμού των μικροβιακών αποικιών. Με την άμεση ανάλυση του δείγματος καυσίμου ή τη μελέτη φιλτραρισμένων σωματιδίων από αυτό, παρέχονται πληροφορίες για τους διάφορους τύπους μικροοργανισμών που αποτελούν τον μικροβιακό πληθυσμό. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι αυτές οι τεχνικές έχουν περιορισμούς στη διάκριση μεταξύ ζωντανών και νεκρών μικροβίων [53].
- Οι μοριακές τεχνικές είναι σχετικά νέες μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση της μικροβιακής επιμόλυνσης καυσίμων. Αποτελούν πολλά υποσχόμενες τεχνικές για τον εντοπισμό και τον ποσοτικό προσδιορισμό των μικροοργανισμών. Χρησιμοποιούν την ανάλυση νουκλεϊκών οξέων, όπως το DNA, για να ανιχνεύσουν και να χαρακτηρίσουν μικροβιακούς πληθυσμούς σε δείγματα καυσίμων. Η Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης (PCR) είναι μια από τις πιο συχνά χρησιμοποιούμενες μοριακές τεχνικές, που επιτρέπει την ανίχνευση συγκεκριμένων αλληλουχιών DNA μικροοργανισμών-στόχων. Άλλες προηγμένες μοριακές μέθοδοι περιλαμβάνουν την ποσοτική PCR

(qPCR), η οποία επιτρέπει τον ποσοτικό προσδιορισμό των μικροβιακών πληθυσμών, και την Αλληλουχία Επόμενης Γενιάς (NGS). Αν και οι αρχικές μελέτες δείχνουν θετική προοπτική, πρέπει να λυθούν ταυτόχρονα με τα τεχνικά θέματα και θέματα που σχετίζονται με το κόστος των μεθόδων αυτών [50,71,72].

- Οι τεχνικές ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης της ATP μέσω τεχνολογίας βιοφωταύγειας (ATP Bioluminescence) είναι τεχνικές που βασίζονται στη μέτρηση της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP), μιας ουσίας που συναντάται σε όλους τους ζωντανούς οργανισμούς, συμπεριλαμβανομένων των βακτηρίων και των μυκήτων. Η ποσοτικοποίηση της επιτρέπει την αξιολόγηση της μικροβιακής δραστηριότητας, καθιστώντας την ένα πολύτιμο εργαλείο για την ανίχνευση της παρουσίας μικροοργανισμών. Στον τομέα των καυσίμων, οι τεχνικές ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης ATP είναι σχετικά νέες, ωστόσο χρησιμοποιούνται ευρέως στη βιομηχανία τροφίμων. Η εφαρμογή των συγκεκριμένων μεθόδων για τον έλεγχο των καυσίμων κερδίζει ολοένα και περισσότερο δημοτικότητα λόγω της αξιοπιστίας τους. Με τη μέτρηση της ATP, οι ερευνητές και οι επαγγελματίες του κλάδου μπορούν να αποκτήσουν πληροφορίες για την έκταση της μικροβιακής επιμόλυνσης και να αξιολογήσουν την πιθανότητα μικροβιολογικής υποβάθμισης του καυσίμου [50]. Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για την μέτρηση του μικροβιακού φορτίου στην παρούσα διπλωματική εργασία βασίζεται στις συγκεκριμένες τεχνικές.

Εικόνα 1-15: Δομή ATP [73].

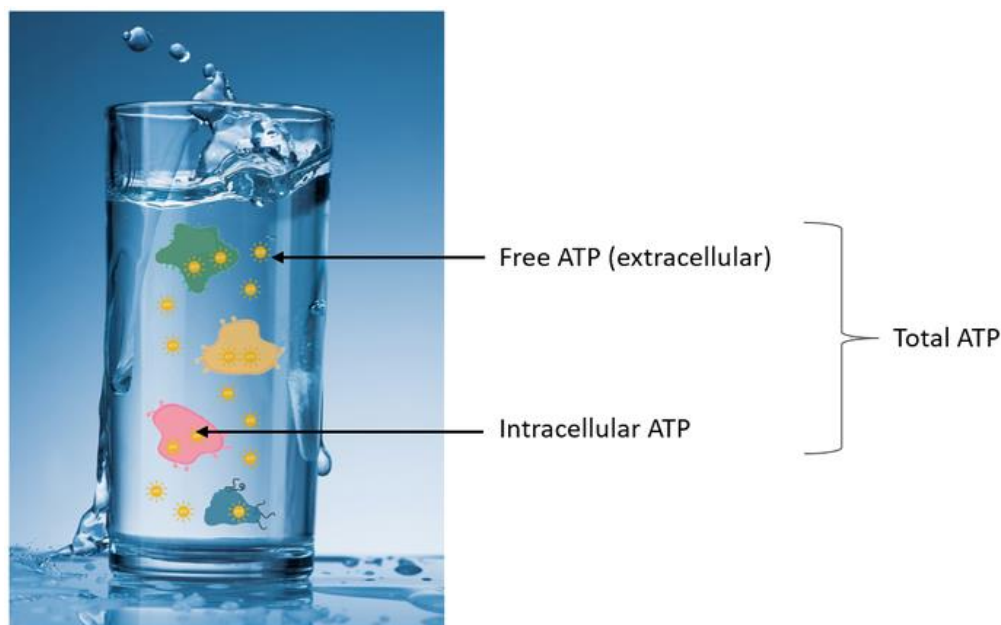


1.5.6 Προσδιορισμός της Τρι-φωσφορικής Αδενοσίνης (ATP)

Η ATP συναντάται σε δύο μορφές:

- Κυτταρική ATP (Intracellular ή cellular ATP): Είναι αυτή που βρίσκεται στα ζωντανά κύτταρα, και διαδραματίζει ζωτικό ρόλο στην ενδοκυτταρική μεταφορά ενέργειας. Ανανεώνεται μόνιμα και ανακυκλώνεται στο κύτταρο, αλλά η παραγωγή της σταματά αμέσως όταν το κύτταρο πεθάνει.
- Ελεύθερη ATP (Free ATP): Ως ελεύθερη ATP αναφέρεται αυτή που απελευθερώνεται από νεκρά κύτταρα. Αφού επέλθει ο θάνατος ενός κυττάρου, ακολουθεί η ρήξη της μεμβράνης του, οδηγώντας στην απελευθέρωση ATP στο περιβάλλον. Όντας ένα ασταθές μόριο, υφίσταται πολύ εύκολα διάσπαση. Διάφοροι παράγοντες επηρεάζουν τη σταθερότητα του, συμπεριλαμβανομένων του pH, της θερμοκρασίας, του είδους βιοκτόνου που τυχόν χρησιμοποιείται και της παρουσίας άλλων μικροοργανισμών. Η μέτρηση ελεύθερης ATP μπορεί να είναι δύσκολη, ωστόσο σε ευνοϊκές συνθήκες, μπορεί να καταστεί εφικτός ο προσδιορισμός της [75].

Εικόνα 1-16: Κυτταρική, Ελεύθερη και Ολική ATP [75].

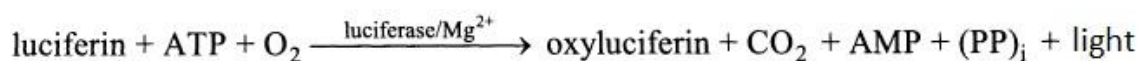


Η αρχή λειτουργίας των μεθόδων προσδιορισμού της Τρι-φωσφορικής Αδενοσίνης βασίζεται στην απομόνωση της από το εξεταζόμενο δείγμα και την ανάμειξή με το ένζυμο της λουσιφερίνης (luciferase/luciferine) [50]. Στα καύσιμα, οι μέθοδοι προσδιορισμού της ATP εφαρμόζονται σύμφωνα με ένα από τα παρακάτω πρότυπα:

- **ASTM D7463 - 21**: Standard Test Method for Adenosine Triphosphate (ATP) Content of Microorganisms in Fuel, Fuel/Water Mixtures, and Fuel Associated Water.
- **ASTM D7687 – 23**: Standard Test Method for Measurement of Cellular Adenosine Triphosphate in Fuel and Fuel-associated Water with Sample Concentration by Filtration.

Η ASTM D7463 αναφέρεται και ως μέθοδος προσδιορισμού ATP 1^{ης} γενιάς ενώ η ASTM D7687 ως 2^{ης} γενιάς. Στην πρώτη μέθοδο προσδιορίζεται η ολική ATP (total ATP) ενώ στην δεύτερη ποσοτικοποιείται η κυτταρική ATP (cellular ATP-cATP), η οποία είναι αυτή που βρίσκεται στα ζωντανά κύτταρα και ως αποτέλεσμα αποτελεί ένδειξη των μεταβολικά ενεργών μικροοργανισμών. Σημαντική διαφορά αποτελεί η ικανότητα της 2ης μεθόδου

να προσδιορίζει την ATP σε δείγματα μειγμάτων καυσίμου/νερού που δεν είναι πλήρως διαχωρισμένα [53]. Παρά τις διαφορές που συναντώνται τόσο στη διαδικασία εκχύλισης της ουσίας όσο και κυρίως στο είδος ATP που μπορεί να προσδιοριστεί, και στις 2 μεθόδους βασική αρχή είναι η εκχύλιση και η ανάμειξη της ATP με το ένζυμο. Αναλυτικότερα, ακολουθείται μια διαδικασία που περιλαμβάνει την χρήση αντιδραστηρίων με σκοπό την δέσμευση, την εκχύλιση και την ανάμειξη της ATP με το ένζυμο, προκειμένου να καταστεί δυνατή η εκτίμηση του επιπέδου της μικροβιακής επιμόλυνσης [50]. Η αντίδραση της ATP με το ένζυμο έχει ως αποτέλεσμα την έκλυση φωτός, σύμφωνα με την παρακάτω αντίδραση:



Το ένζυμο luciferase μετατρέπει μια ένωση που ονομάζεται λουσιφερίνη σε οξυλουσιφερίνη και ως αποτέλεσμα παράγεται φως. Για να πραγματοποιηθεί αυτή η αντίδραση απαιτείται ενέργεια οι οποία προέρχεται από την ATP, έτσι οι ερευνητές έχουν εκμεταλλευτεί την αλληλεπίδραση λουσιφεράσης-λουσιφερίνης για να μετρήσουν τα επίπεδα ATP στα κύτταρα.

Η ένταση του εκπεμπόμενου φωτός είναι ανάλογη με τη συγκέντρωση της ATP. Έτσι, μπορεί να γίνει ποσοτικοποίηση έμμεσα, με μέτρηση της έντασης του φωτός με ένα φωτόμετρο (luminometer). Το αποτέλεσμα εκφράζεται σε RLU/mL (Relative Light Units) για την πρώτη μέθοδο, ενώ για την δεύτερη γίνεται μετατροπή των RLU σε pg ATP/mL. Η ποσότητα του ATP που αντιδρά ανά μονάδα χρόνου και η ένταση του φωτός που παράγεται επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες. Επομένως, είναι απαραίτητο οι μετρήσεις να γίνονται υπό ελεγχόμενες συνθήκες (pH, θερμοκρασία κ.α.) [74].

Οι μέθοδοι ανίχνευσης ATP προσφέρουν πολλά πλεονεκτήματα αλλά και μειονεκτήματα στην αξιολόγηση της μικροβιακής επιμόλυνσης. Από τη θετική πλευρά, αυτές οι μέθοδοι είναι αποτελεσματικές, με γρήγορους χρόνους μέτρησης που κυμαίνονται από 10 έως 15 λεπτά, επιτρέποντας την ταχεία ανίχνευση της μικροβιακής δραστηριότητας. Επιπλέον, δεν απαιτούν ειδική μεταχείριση των αποβλήτων, απλοποιώντας τη διαδικασία των μετρήσεων. Ωστόσο, ένα από τα μειονεκτήματα είναι το υψηλό κόστος των

αντιδραστηρίων, το οποίο μπορεί να επηρεάσει το συνολικό κόστος της ανάλυσης.

Η μέθοδος ανίχνευσης ATP πρώτης γενιάς απαιτούσε αρχικά μεγάλους όγκους δειγμάτων, που ξεπερνούσαν τα 500 mL. Ωστόσο, στις μεθόδους δεύτερης γενιάς έχει εξαλειφθεί αυτός ο περιορισμός, μειώνοντας τον απαιτούμενο όγκο δείγματος σε μικρότερο ή ίσο των 20 mL. Αυτή η αλλαγή έχει βελτιώσει σημαντικά την διαδικασία των μετρήσεων.

Ένα ακόμη όφελος των μεθόδων προσδιορισμού ATP δεύτερης γενιάς έγκειται στο γεγονός ότι αποδίδουν μεγαλύτερες τιμές στα αποτελέσματα σε σύγκριση με την πρώτη γενιά εξαιτίας της ικανότητας τους να ανιχνεύουν ένα ευρύτερο φάσμα μικροοργανισμών. Εντούτοις, είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι ενώ οι μέθοδοι δεύτερης γενιάς προσφέρουν αυξημένη ευαισθησία, δεν παρέχουν πληροφορίες σχετικά με τους τύπους μικροοργανισμών που ανιχνεύονται, περιορισμός ο οποίος υπάρχει και στις μεθόδους πρώτης γενιάς. Επομένως, η επιλογή της κατάλληλης μεθόδου δοκιμής ATP θα πρέπει να λαμβάνει υπόψη τους στόχους και απαιτήσεις της ανάλυσης [53,61].

Πίνακας 1-5: Ερμηνεία αποτελεσμάτων μεθόδου 1ης γενιάς ATP [53].

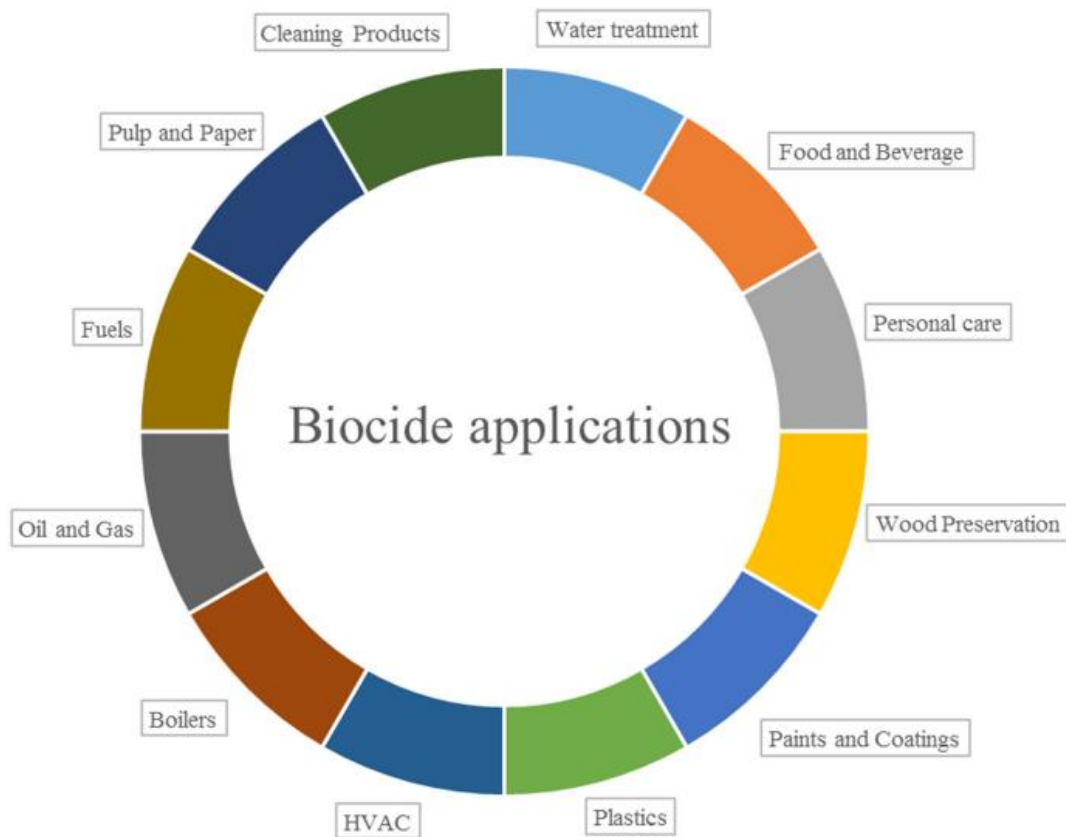
| Εξεταζόμενο δείγμα | Αμελητέα επιμόλυνση (RLU/L) | Μέση επιμόλυνση (RLU/L) | Υψηλή επιμόλυνση (RLU/L) |
|--------------------|-----------------------------|-------------------------|--------------------------|
| Φάση καυσίμου | <1000 | 1000-5000 | >5000 |

Πίνακας 1-6: Ερμηνεία αποτελεσμάτων μεθόδου 2ης γενιάς ATP [53,80].

| Εξεταζόμενο δείγμα | Καλός έλεγχος (pg cATP/ml) | Προληπτική δράση (pg cATP/ml) | Διορθωτική δράση (pg cATP/ml) |
|--------------------|----------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| Φάση καυσίμου | <10 | 10-100 | >100 |
| Υδατική φάση | <100 | 100-1000 | >1000 |

1.6 Βιοκτόνα

Εικόνα 1-17: Τομείς χρήσης βιοκτόνων (HVAC—heating, ventilation, and air conditioning) [63].



Τα βιοκτόνα καυσίμων είναι χημικά πρόσθετα που χρησιμοποιούνται για να αντιμετωπιστεί ή να αποτραπεί το φαινόμενο της μικροβιακής ανάπτυξης στα συστήματα καυσίμων. Αναλυτικότερα, στις περιπτώσεις εξάπλωσης της μικροβιακής επιμόλυνσης, αποτελούν μια άμεση λύση, καθώς η ανάμειξη τους με το επιμολυσμένο καύσιμο μπορεί να επιφέρει μείωση του μικροβιακού φορτίου, αλλά και αποτροπή της ανάπτυξης νέων μικροοργανισμών, όπως βακτήρια, μύκητες και ζυμομύκητες που μπορούν να μολύνουν τα συστήματα καυσίμων. Στοχεύουν και διαταράσσουν τις ζωτικές διαδικασίες αυτών των μικροβίων, αποτρέποντας τον πολλαπλασιασμό τους και τα συναφή προβλήματα που προκαλούν [3,53].

1.6.1 Κριτήρια επιλογής βιοκτόνων

Για την επιλογή του κατάλληλου βιοκτόνου λαμβάνονται υπόψη διάφορα κριτήρια βάσει των χαρακτηριστικών του συστήματος καυσίμου/νερού, όπως το επίπεδο και το είδος της μικροβιακής επιμόλυνσης. Ειδικότερα, οι παράγοντες που εξετάζονται περιλαμβάνουν την ικανότητα του προϊόντος να δρα αποτελεσματικά σε μια μεγάλη ποικιλία μικροοργανισμών, τη φιλική προς τον χρήστη φύση και ευκολία χειρισμού του, και την επιρροή που θα έχει η χρήση του στον βιοαποδομήσιμο χαρακτήρα του καυσίμου, ο οποίος είναι στενά συνδεδεμένος με την περιεκτικότητά του σε βιοντίζελ [53]. Δεδομένης της ποικιλίας των μικροοργανισμών που υπάρχουν στα συστήματα καυσίμων, το επιλεγμένο βιοκτόνο πρέπει να διαθέτει ευρεία δυνατότητα εφαρμογής για την πρόληψη της μόλυνσης του συστήματος ή την αποτελεσματική καταπολέμηση της υπάρχουσας μικροβιακής ανάπτυξης. Ταυτόχρονα, δεν πρέπει να επηρεάζει αρνητικά την απόδοση του καυσίμου ή να έχει αρνητικές επιπτώσεις στα εξαρτήματα του συστήματος καυσίμου. Επιπλέον, είναι σημαντικό να αξιολογούνται παράγοντες όπως η υπολειμματική προστασία και να διασφαλίζεται ότι το επιλεγμένο βιοκτόνο καυσίμου συμμορφώνεται με σχετικούς κανονισμούς που αφορούν θέματα ασφάλειας, περιβάλλοντος και ανθρώπινης υγείας, όπως ο BPR Biocidal Products Regulation, (EU) 528/2012 [61,62].

Εικόνα 1-18: Κριτήρια επιλογής βιοκτόνων [68].

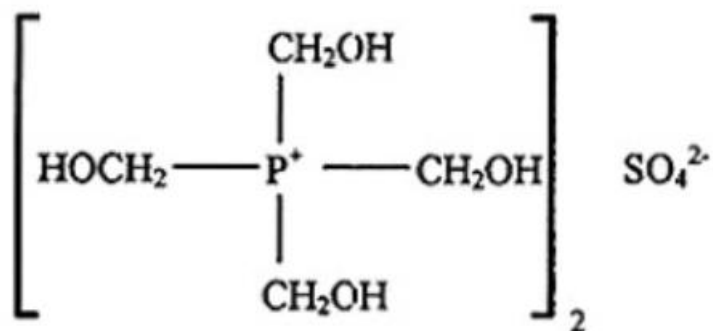


1.6.2 Ταξινόμηση

Τα βιοκτόνα καυσίμων μπορούν να ταξινομηθούν με διάφορους τρόπους με βάση διαφορετικά κριτήρια. Μια κοινή μέθοδος ταξινόμησης βασίζεται στον τρόπο δράσης ή στον μηχανισμό με τον οποίο το βιοκτόνο ελέγχει τη μικροβιακή ανάπτυξη. Διαχωρίζονται σε οξειδωτικά, μη οξειδωτικά, και συνδυαστικά βιοκτόνα τα οποία ενσωματώνουν πολλαπλούς τρόπους δράσης. Τα οξειδωτικά βιοκτόνα (όζον, υπεροξείδιο του υδρογόνου, χλωριωμένες ενώσεις) τα οποία δρουν οξειδώνοντας και καταστρέφοντας τις δομές των μικροοργανισμών, αντιδρούν με πρωτεΐνες και λιπίδια για την καταστροφή του κυτταρικού τοιχώματος. Καταναλώνονται ταχύτατα σε αντιδράσεις οξείδωσης, περιορίζοντας τη μακροπρόθεσμη επίδραση τους, παρουσιάζοντας έτσι αδυναμία στην παροχή υπολειμματικής προστασίας. Τα μη οξειδωτικά βιοκτόνα (ενώσεις θείου, ενώσεις κασσίτερου, ισοθειαζολόνες, άλατα χαλκού κ.α.) έχουν χρησιμοποιηθεί στη βιομηχανία του πετρελαίου και του φυσικού αερίου. Διαταράσσουν τις κυτταρικές λειτουργίες μέσω άλλων μηχανισμών, παρεμβαίνοντας στο μεταβολισμό, καταστρέφοντας τις κυτταρικές μεμβράνες ή αλληλοεπιδρώντας με άλλα συστατικά των κυττάρων. Τα μη οξειδωτικά βιοκτόνα έχουν πιο μακροπρόθεσμη δράση από τα οξειδωτικά βιοκτόνα, με μερικά από αυτά να έχουν ευρέως φάσματος

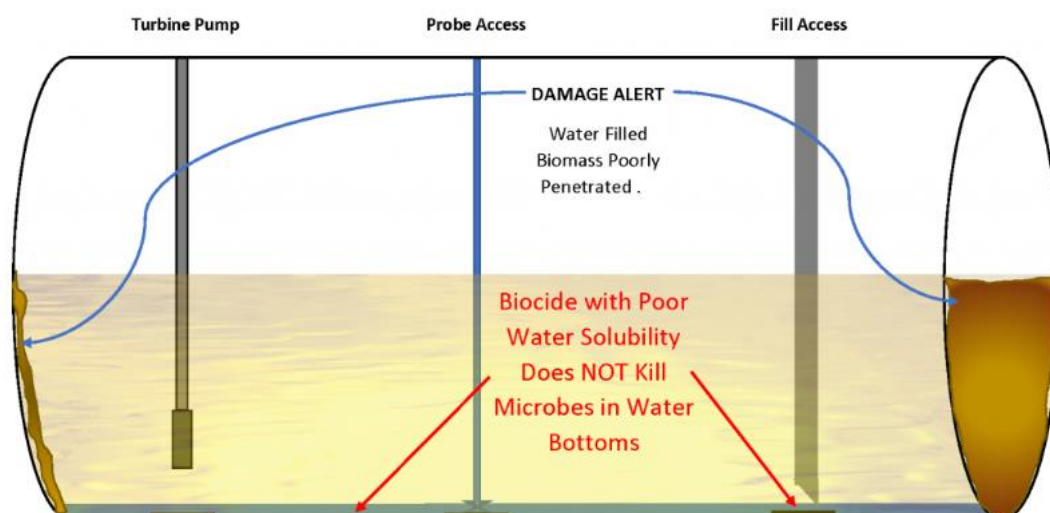
αποτελεσματικότητα και να είναι βιοαποδομήσιμα όπως το THPS (tetrakis hydroxymethyl phosphonium sulfate) και η γλουταραλδεΐδη [3,64].

Εικόνα 1-19: THPS (tetrakis hydroxymethyl phosphonium sulfate) [65].



Ταυτόχρονα τα βιοκτόνα μπορούν να ταξινομηθούν με βάση το είδος των μικροοργανισμών που στοχεύουν να καταπολεμήσουν και χωρίζονται σε βακτηριοκτόνα (bactericides), μυκητοκτόνα (fungicides) ή συνολικά μικροβιοκτόνα (microbiocides). Κατηγοριοποιούνται και ως υδατοδιαλυτά (water-soluble), διαλυτά στη φάση καυσίμου (fuel-soluble) ή διαλυτά και στις δύο φάσεις (dual soluble).

Εικόνα 1-20: Δράση μη υδατοδιαλυτού βιοκτόνου [69].



Πίνακας 1-7: Ουσίες με βιοκτόνο δράση στον τομέα καυσίμων [3,53,61].

| Διαλυτά στην φάση καυσίμου | Υδατοδιαλυτά |
|----------------------------|--------------|
| Συνθέσεις ισοθειαζολόνης | Μορφολίνες |
| Οργανοβοριάνες | Οξαζολιδίνες |
| Πυριδινοθειόνη | Αλογονίδια |
| Εξαϋδροτριαζίνες | Αλδεΐδες |
| Ιμιδαζολκαρβαμικά | Φαινολικά |

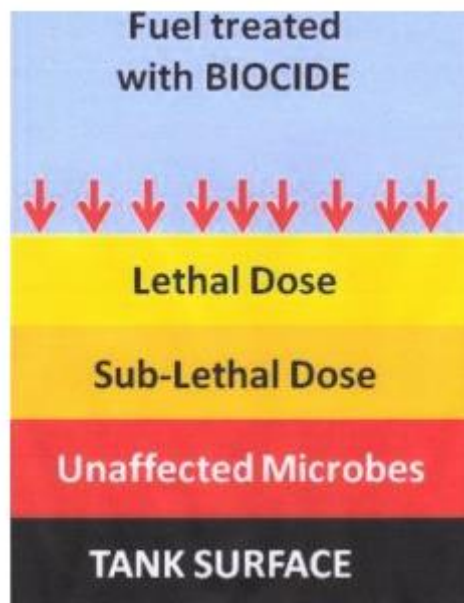
1.6.3 Δοσολογία-Αποτελεσματικότητα

Συνήθως υπάρχουν 3 προτεινόμενες δοσολογίες για τα βιοκτόνα, ανάλογα με την αιτία χρήσης τους:

- Προληπτική δοσολογία: Αφορά την χρήση του βιοκτόνου χωρίς να έχει εμφανιστεί μικροβιακή επιμόλυνση στο καύσιμο, με σκοπό την πρόληψη έναντι μελλοντικών επιμολύνσεων.
- Δοσολογία αντιμετώπισης χαμηλής μικροβιακής επιμόλυνσης: Η συγκεκριμένη δοσολογία προτείνεται συνήθως όταν παρατηρείται η ύπαρξη της μικροβιακής επιμόλυνσης, η οποία ωστόσο βρίσκεται ακόμα σε αρχικά στάδια.
- Δοσολογία αντιμετώπισης υψηλής μικροβιακής επιμόλυνσης (συχνά αναφέρεται και ως shock treatment): Προτείνεται όταν στο καύσιμο παρατηρείται η ύπαρξη υψηλού μικροβιακού φορτίου.

Οι ακριβείς ποσότητες στις οποίες χρησιμοποιείται το εκάστοτε βιοκτόνο αναφέρονται συνήθως στις οδηγίες χρήσεις που αναγράφονται στα σκευάσματα που τα εμπεριέχουν και ορίζονται συνήθως από τους παρασκευαστές τους [53]. Οι προτεινόμενες δοσολογίες είναι ιδιαίτερως σημαντικό να ακολουθούνται καθώς πλεονάζουσα ή ανεπαρκής ποσότητα προϊόντος μπορεί να έχει αντίκτυπο στην αποτελεσματικότητα. Σε περίπτωση λανθασμένης δοσολογίας, όπως για παράδειγμα χρήση μικρότερης ποσότητας από την προτεινόμενη, ενδέχεται να μην αντιμετωπιστεί πλήρως το πρόβλημα της μικροβιακής επιμόλυνσης, καθώς το βιοκτόνο μπορεί να μην έρθει ποτέ σε επαφή με μικρόβια ενσωματωμένα βαθιά μέσα στα στρώματα λάσπης και μυκητολάσπης.

Εικόνα 1-21: Αποτελέσματα δοσολογίας των βιοκτόνων [70].



Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι τα βιοκτόνα δρουν μέσω της επαφής με τα μικρόβια. Εάν η επιμόλυνση είναι υψηλή, το βιοκτόνο μπορεί να μην εξουδετερώσει όλα τα ζωντανά μικρόβια στο σύστημα. Αυτό που παρατηρείται είναι ότι τα ανώτερα στρώματα λαμβάνουν τη θανατηφόρα δόση, τα μεσαία στρώματα μια λιγότερο θανατηφόρα δόση και τα κάτω στρώματα (αυτά που βρίσκονται στον πυθμένα ή στα τοιχώματα της δεξαμενής) δεν επηρεάζονται καθώς υπάρχει ελάχιστη έως καθόλου επαφή με το βιοκτόνο. Εάν οι ρυθμοί προσθήκης βιοκτόνου δεν είναι σωστοί ή η προσθήκη δοσολογίας συντήρησης γίνεται ανά μεγάλα χρονικά διαστήματα, τα μικρόβια μπορεί να εξελιχθούν σε ανθεκτικά στελέχη που σημαίνει ότι θα απαιτούνται ακόμη υψηλότερες δόσεις ή αλλαγή του προϊόντος για να αντιμετωπιστεί αποτελεσματικά η επιμόλυνση. Επίσης, εάν υπάρχει ελεύθερο νερό, το βιοκτόνο θα περάσει σταδιακά στην υδατική φάση. Τα περισσότερα βιοκτόνα έχουν σχεδιαστεί ώστε να ενεργούν με τον συγκεκριμένο τρόπο, καθώς το νερό συγκρατεί τη συντριπτική πλειοψηφία του μικροβιακού υλικού. Ωστόσο, εάν αυτό το μείγμα αναρροφηθεί μέσω των γραμμών τροφοδοσίας στο σύστημα καυσίμου του κινητήρα, μπορεί να προκαλέσει σημαντικές ζημιές στις αντλίες καυσίμου και στα μπεκ ψεκασμού [70].

Επιπλέον, καθώς τα βιοκτόνα καταναλώνονται ενώ σκοτώνουν τα μικρόβια, η συγκέντρωσή τους μειώνεται και όταν αυτή φτάσει σε υποτοξικά επίπεδα, οι επιζώντες μικροοργανισμοί θα μπορούν οδηγήσουν ξανά σε επιδείνωση της κατάστασης του καυσίμου [3]. Άλλες παράμετροι που μπορεί να επηρεάσουν την αποτελεσματικότητα ενός βιοκτόνου είναι [53]:

- Ο χρόνος επαφής με τους μικροοργανισμούς.
- Το πάχος του βιοφίλμ που έχει σχηματιστεί (η δυνατότητας εισχώρησης τη βιοκτόνου αντιστρόφως ανάλογη του πάχους βιοφίλμ).
- Οι τύποι και το μέγεθος πληθυσμών μικροοργανισμών που καλείται να αντιμετωπίσει.
- Το pH του συστήματος.
- Η θερμοκρασία του συστήματος αλλά και του βιοκτόνου κατά την εφαρμογή.
- Η παρουσία κατασταλτικών παραγόντων όπως για παράδειγμα τα σουλφίδια.
- Η αναλογία καυσίμου-υδατικής φάσης.

Συμπερασματικά, τα βιοκτόνα μπορούν να επιτελέσουν σημαντικό ρόλο στην αποκατάσταση καυσίμων και συστημάτων καυσίμων γενικότερα, χωρίς όμως να αποτελούν αυτόνομη λύση, αφού η χρήση τους θα πρέπει να συνοδεύεται και από ενέργειες όπως ο καθαρισμός των δεξαμενών αποθήκευσης, των σωληνώσεων μεταφοράς κ.α. Εγείρονται ωστόσο ερωτήματα για τις επιπτώσεις που μπορεί να έχει η χρήση τους, στη δυνατότητα διατήρησης του οικολογικού χαρακτήρα ενός καυσίμου, όπως για παράδειγμα το βιοντίζελ, στις προδιαγραφές του καυσίμου, στους κινητήρες και στα εξαρτήματα με τα οποία θα έρθει σε επαφή το βιοκτόνο. Τα παραπάνω ερωτήματα εγείρονται κυρίως λόγω της έλλειψης συνολικού θεσμικού πλαισίου ή προδιαγραφών που να καλύπτουν γενικότερα τη χρήση των εν λόγω προϊόντων στον τομέα των καυσίμων [53].

1.6.4 Ανίχνευση βιοκτόνων

Η ανίχνευση των βιοκτόνων στα καύσιμα είναι σημαντική επειδή η χρήση τους σε υπερβολικές ποσότητες ή χωρίς κατάλληλη παρακολούθηση (δοσολογία) μπορεί να οδηγήσει σε ανεπιθύμητα αποτελέσματα όπως η ανεπαρκής δράση κατά των μικροοργανισμών, η υποβάθμιση της ποιότητας των καυσίμων και πιθανά προβλήματα απόδοσης του κινητήρα. Για την ανίχνευση της παρουσίας βιοκτόνων μπορούν να χρησιμοποιηθούν διάφορες μέθοδοι όπως:

- Χρωματογραφικές τεχνικές: Η αέρια χρωματογραφία (GC) και η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) είναι συνήθως μέθοδοι διαχωρισμού και ταυτοποίησης βιοκτόνων ουσιών που υπάρχουν στο δείγμα καυσίμου (κυρίως στην υδατική φάση). Αυτές οι τεχνικές μπορούν να παρέχουν ακριβή ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των συγκεκριμένων βιοκτόνων ενώσεων.
- Φασματομετρία μάζας: Η φασματομετρία μάζας (MS) συνήθως συνδυάζεται με χρωματογραφικές τεχνικές για τον εντοπισμό και τον ποσοτικό προσδιορισμό των βιοκτόνων. Η MS παρέχει πληροφορίες σχετικά με το μοριακό βάρος των βιοκτόνων ενώσεων, βοηθώντας στην ανίχνευση τους [76,77].
- Μικροβιολογικές Μέθοδοι: Αυτές οι μέθοδοι περιλαμβάνουν τη χρήση συγκεκριμένων μικροβιακών στελεχών που είναι ευαίσθητα στα βιοκτόνα. Παρακολουθώντας την ανάπτυξη ή την αναστολή της ανάπτυξης αυτών των μικροβίων παρουσία του δείγματος του καυσίμου, μπορεί να προσδιοριστεί η παρουσία βιοκτόνων [50].
- Μέσω αισθητήρων: Αισθητήρες οπτικών ινών και βιοαισθητήρες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ανίχνευση βιοκτόνων ουσιών. Αυτοί οι αισθητήρες μετρούν τις αλλαγές στις ιδιότητες που προκαλούνται από την αλληλεπίδραση μεταξύ του βιοκτόνου και της επιφάνειας του αισθητήρα [78,79].

Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι η επιλογή της κατάλληλης μεθόδου ανίχνευσης βιοκτόνου εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, όπως ο τύπος του βιοκτόνου που χρησιμοποιείται, η επιθυμητή ευαισθησία και ο

εξοπλισμός. Επιπλέον, είναι σημαντικό να ακολουθούνται κατάλληλα μέτρα ασφαλείας και οδηγίες κατά το χειρισμό και την ανάλυση των δειγμάτων για να διασφαλιστούν ακριβή και αξιόπιστα αποτελέσματα.

2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1 Μέθοδος προσδιορισμού μικροβιακού φορτίου (προσδιορισμός Τρι-Φωσφορικής Αδενοσίνης)

Η ATP είναι ουσία που υπάρχει σε όλα τα ζωντανά κύτταρα. Η ανάμιξη και η αντίδραση της με τη λουσιφερίνη παρουσία του ενζύμου λουσιφεράση συνοδεύεται με παραγωγή φωτός το οποίο μετράται με τη βοήθεια ενός φωτόμετρου.

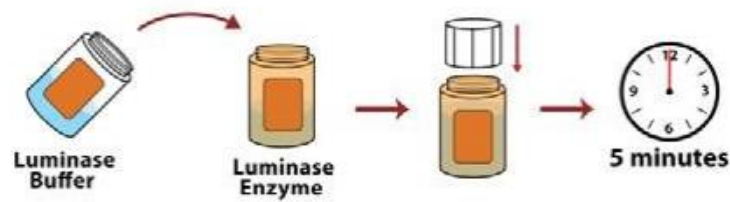
Η διαδικασία που αναλύεται παρακάτω αφορά την πειραματική μέθοδο που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό του μικροβιακού φορτίου στα υπό εξέταση δείγματα και είναι σύμφωνη με την πρότυπη μέθοδο ASTM D 7687(2023).

Η συγκεκριμένη μέθοδος ενδείκνυται λόγω της ικανότητας προσδιορισμού της μικροβιακής επιμόλυνσης σε δείγματα νήζελ κίνησης αλλά και εξαιτίας της γρήγορης και απλής διαδικασίας που προσφέρει.

➤ Προετοιμασία και χειρισμός του ενζύμου (Luminase)

Το ένζυμο παραλαμβάνεται σε ξηρή κατάσταση (freeze-dried form) καθώς έτσι βρίσκεται σε πιο σταθερή μορφή πριν την χρήση του. Πριν την έναρξη των μετρήσεων προηγείται ενυδάτωση του ενζύμου με προσθήκη ρυθμιστικού διαλύματος σε αυτό (Buffer), το διάλυμα που προκύπτει ανακινείται ελαφρώς αφήνεται για τουλάχιστον 5 λεπτά.

Εικόνα 2-1: Διαδικασία ενυδάτωσης της Luminase [80].



Εικόνα 2-2: Luminase σε ξηρή μορφή [81].



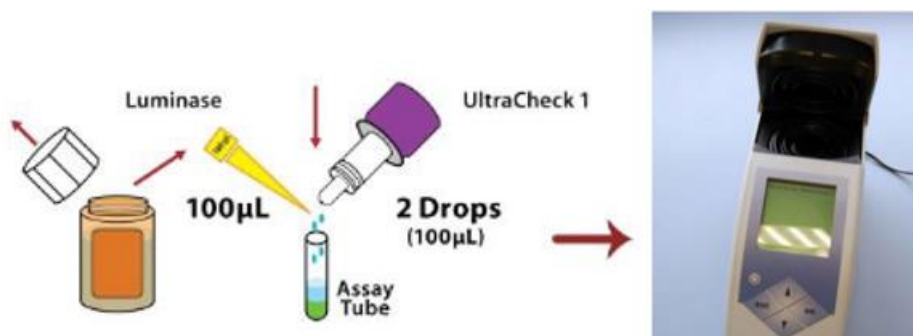
Το ενυδατωμένο ένζυμο διατηρείται στο ψυγείο για περίπου 3 μήνες (στην κατάψυξη για 6 μήνες) και προτού χρησιμοποιηθεί πρέπει να είναι σε θερμοκρασία δωματίου. Έτσι, η αποθήκευση του στη κατάψυξη μπορεί να μην είναι ιδιαίτερα πρακτική (παρ' ότι προσφέρει την δυνατότητα μεγαλύτερου χρόνου αποθήκευσης), καθώς σε περίπτωση που ζητείται άμεση λήψη μετρήσεων αυτή δεν θα είναι εφικτή, αφού θα πρέπει να παρέλθει μεγαλύτερο χρονικό διάστημα ώστε να αποκτήσει θερμοκρασία δωματίου το ένζυμο. Επιπλέον, αξίζει να σημειωθεί δεν θα πρέπει να εκτίθεται σε θερμοκρασίες άνω των 30 °C για περισσότερο από 2 ώρες [80].

➤ Έλεγχος καταλληλότητας ενζύμου

Διεξάγεται έλεγχος καταλληλότητας του ενζύμου με πρότυπο διάλυμα UltraCheck 1 για κάθε σετ μετρήσεων. Συγκεκριμένα, σε ειδικό δοκιμαστικό σωλήνα γίνεται ανάμειξη 2 σταγόνων από το πρότυπο διάλυμα, με 100 μL από το ένζυμο τα οποία λαμβάνονται με την βοήθεια μικροπιπέτας. Το διάλυμα αναδεύεται ελαφρώς και εντός περίπου 10 δευτερολέπτων από την στιγμή της ανάμειξης τοποθετείται ο δοκιμαστικός σωλήνας μέσα στο

φωτόμετρο ώστε να ληφθεί η μέτρηση (RLU_{ATP1}), η οποία είναι απαραίτητη ώστε να καταστεί δυνατή η μετατροπή των τιμών του φωτόμετρου (RLU) σε συγκεντρώσεις ATP. Εάν για την τιμή που καταγράφεται ισχύει $RLU_{ATP1} \leq 5000$, το ένζυμο καθίσταται μη ενεργό και τότε θα πρέπει να επαναληφθεί η διαδικασία ενυδάτωσης για νέο ένζυμο [80].

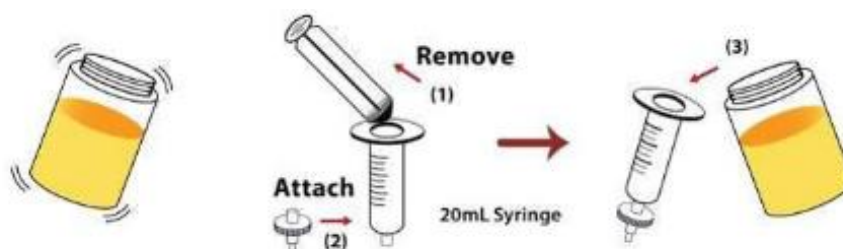
Εικόνα 2-3: Βαθμονόμηση Ενζύμου [5,80].



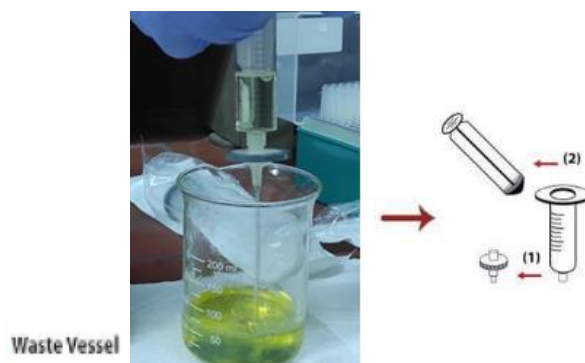
➤ Μέτρηση όγκου και φιλτράρισμα δείγματος

Αρχικά ανακινείται το δείγμα και στην συνέχεια λαμβάνονται με την βοήθεια ειδικής σύριγγας, 20 mL καυσίμου ή 5 mL της υδατικής φάσης του. Στο κάτω άκρο της σύριγγας τοποθετείται φίλτρο (Quench-Gone Organic Filter) από το οποίο στην συνέχεια διαπερνά η ποσότητα του υπό εξέταση δείγματος πιέζοντας το έμβολο με αργό ρυθμό. Το δείγμα απορρίπτεται σε δοχείο αποβλήτων και ακολουθεί αφαίρεση του του φίλτρου και στην συνέχεια αφαίρεση του εμβόλου από την σύριγγα.

Εικόνα 2-4: Μέτρηση όγκου δείγματος [80].



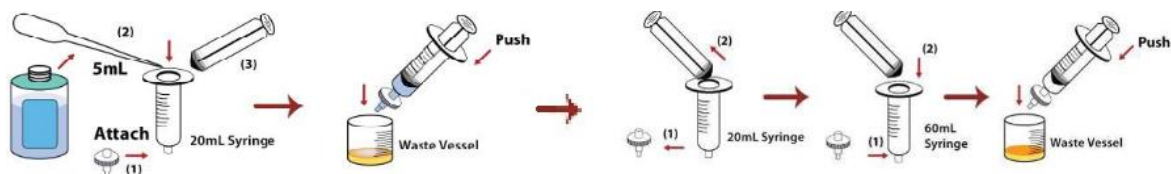
Εικόνα 2-5: Φιλτράρισμα δείγματος [80].



➤ Έκπλυση και ξήρανση φίλτρου.

Το φίλτρο προσαρμόζεται ξανά στην σύριγγα και προστίθεται σε αυτήν ποσότητα 5mL αντιδραστηρίου LumiClean , διαλύματος για καθαρισμό του φίλτρου με την απομάκρυνση οργανικών ουσιών και αλάτων, που μπορεί να προκαλέσουν παρεμβολές στις μετρήσεις φωτός που θα ακολουθήσουν. Το έμβολο τοποθετείται ξανά και πιέζεται ώστε να απορριφθούν τα απόβλητα στο δοχείο αποβλήτων. Στην συνέχεια το φίλτρο απομακρύνεται από την σύριγγα (των 20 mL) και τοποθετείται σε μεγαλύτερη (60 mL), αφού πρώτα έχει αφαιρεθεί το έμβολο από την δεύτερη. Το έμβολο επανατοποθετείται, και πιέζεται ώστε ο αποθηκευμένος εντός της σύριγγας αέρας να διαπεράσει το φίλτρο και να το ξηράνει [80].

Εικόνα 2-6: Καθαρισμός και ξήρανση φίλτρου [80].

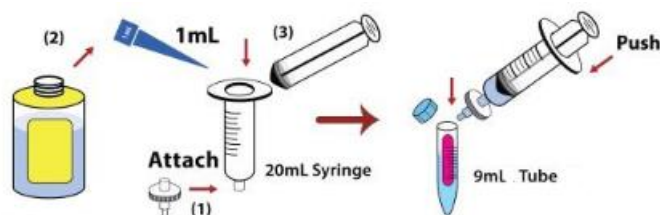


➤ Εκχύλιση ATP

Το φίλτρο επανατοποθετείται στην αρχική σύριγγα (αφού πρώτα έχει αφαιρεθεί το έμβολο), και με την βοήθεια πιπέτας προστίθεται σε αυτήν 1mL αντιδραστηρίου UltraLyse 7 (παράγοντας λύσης κυττάρων ή κυτταρικής

διάσπασης) που προορίζεται για την εκχύλιση της ATP από το φίλτρο. Το έμβολο τοποθετείται ξανά στην σύριγγα και συλλέγεται το περιεχόμενο που διέρχεται από το φίλτρο σε διάλυμα προορισμένο για την αραίωση των εκχυλισμάτων ATP. Το σωληνάριο UltraLute Tube που περιέχει πλέον το αραιωμένο διάλυμα ανακινείται 3 φορές πριν χρησιμοποιηθεί για την ανάλυση.

Εικόνα 2-7: Εκχύλιση ATP [80].



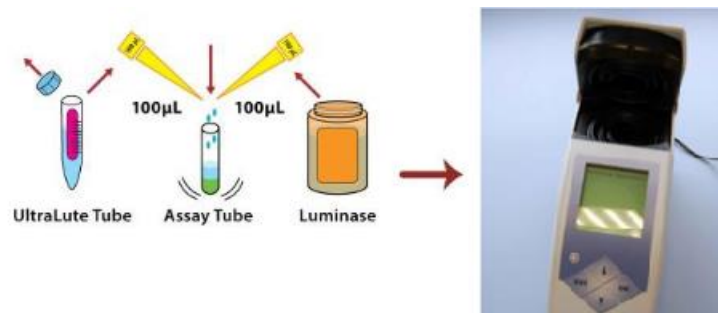
➤ Μέτρηση Αναφοράς

Η λήψη μιας background μέτρησης με κάθε δείγμα, διαρκεί μόνο λίγα δευτερόλεπτα, και βοηθά να διασφαλιστεί ότι οι μετρήσεις ATP είναι ακριβείς. Σε ειδικό δοκιμαστικό σωλήνα προστίθενται με την βοήθεια μικροπιπέτας ποσότητα 100 μ L ενζύμου Lumipase, και στην συνέχεια ο σωλήνας τοποθετείται στο φωτόμετρο και λαμβάνεται η μέτρηση. Εάν η ένδειξη είναι μεγαλύτερη από 20 RLU, ο δοκιμαστικός σωλήνα απορρίπτεται στα απόβλητα και επαναλαμβάνεται το συγκεκριμένο βήμα. Εάν η ένδειξη εξακολουθεί να είναι μεγαλύτερη από 20 RLU σημαίνει ότι ορισμένοι εξωτερικοί παράγοντες (π.χ. φως, επιμόλυνση) μπορεί να επηρεάζουν τα αποτελέσματά και δεν μπορούν να ληφθούν οι μετρήσεις λόγω χαμηλής ακρίβειας (στην προκειμένη περίπτωση ακολουθεί προσεκτικός καθαρισμός του θαλάμου του φωτόμετρου, και επικοινωνία με τους προμηθευτές της συσκευής). Εάν η background μέτρηση είναι μικρότερη από 20 RLU, καταγράφεται ως RLU_{bg}, και ακολουθεί η διαδικασία της ανάλυσης [80].

➤ Ανάλυση

Σε ειδικό δοκιμαστικό σωλήνα προστίθενται με την βοήθεια μικροπιπέτας 100 μL από το αραιωμένο διάλυμα και 100 μL από το ένζυμο. Αναδεύονται ελαφρώς και στην συνέχεια τοποθετείται ο δοκιμαστικός σωλήνας στο φωτόμετρο εντός περίπου 10 δευτερολέπτων από την ανάμειξη. Τελικά, καταγράφεται το αποτέλεσμα της μέτρησης ($RLU_{C_{ATP}}$) και ακολουθούν οι υπολογισμοί.

Εικόνα 2-8: Ανάλυση δείγματος [5,80].



➤ Υπολογισμοί

Τα αποτελέσματα που προκύπτουν από το φωτόμετρο δίνονται σε RLU και μετατρέπονται σε $\mu\text{g ATP/mL}$ με βάση τον παρακάτω τύπο:

$$C_{ATP} = \frac{RLU_{C_{ATP}}}{RLU_{C_{ATP1}}} \times \frac{10^4}{V_{sample}}$$

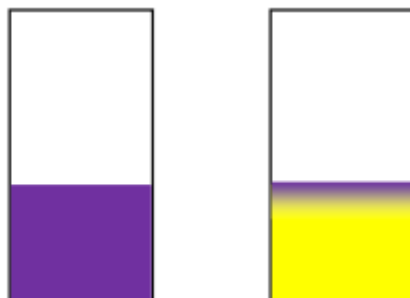
Ως V_{sample} ορίζεται ο αρχικός όγκος του δείγματος που χρησιμοποιήθηκε. Η εκτίμηση των αποτελεσμάτων γίνεται βάση των ορίων του πίνακα 1-6 [80].

2.2 Μικροβιολογική μέθοδος ανίχνευσης βιοκτόνου

Η ανίχνευση ουσιών με βιοκτόνο δράση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας μια μεθοδολογία που περιλαμβάνει την χρήση έτοιμων εμπορικών δοκιμών

(αμπούλες). Τα δοκίμια αυτά περιέχουν ένα υπόστρωμα σε μορφή gel, το οποίο αποτελείται από άγαρ, σπόρους ενός θερμοφιλου βακίλου (συγκεκριμένα του στελέχους *Bacillus stearothermophilus*), θρεπτικά συστατικά για την ανάπτυξη και έναν δείκτη που αλλάζει χρώμα από μωβ σε κίτρινο εάν λάβει χώρα η ανάπτυξη του βακίλου [50].

Εικόνα 2-9: Δοκίμια του test kit για ανίχνευση ουσιών με βιοκτόνο δράση [82].



Διαδικασία μεθόδου:

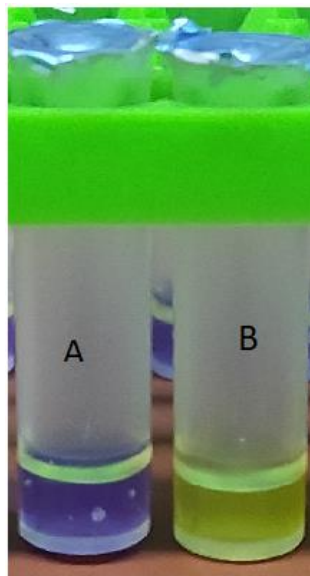
1. Ανάδευση του δείγματος (όταν πρόκειται για ομοιογενές δείγμα) και στην συνέχεια λήψη μικρής ποσότητας με την χρήση της πιπέτας που παρέχεται από το εμπορικό kit. Σε περίπτωση που το δείγμα έχει παραπάνω από 1 φάσεις, πρέπει να αφηθεί σε ηρεμία ώστε να προέλθει πλήρης διαχωρισμός των φάσεων, και στην συνέχεια να ληφθεί δείγμα είτε από την επιθυμητή, είτε και από τις 2 φάσεις και να αναλυθούν ξεχωριστά.
2. Η μικρή ποσότητα που ελήφθη στο πρώτο βήμα, προστίθεται στην αμπούλα με την βοήθεια της πιπέτας, αφού έχει πρώτα έχει αποσφραγιστεί το επάνω μέρος της αμπούλας.
3. Η αμπούλα σφραγίζεται ξανά, και στην συνέχεια σημειώνεται το περιεχόμενο της.
4. Το δοκίμιο μαζί με το περιεχόμενο δείγμα τοποθετείται σε ειδική συσκευή και επωάζεται για 3,5 ώρες σε σταθερή θερμοκρασία των 64 °C [82].

Εικόνα 2-10: Συσκευή επώασης.



5. Μετά το πέρας του παραπάνω χρονικού διαστήματος τα δοκίμια αφαιρούνται από την συσκευή και αξιολογούνται οπτικά ως εξής:
- A. Εάν δεν παρατηρηθεί μεταβολή του χρώματος, τότε το υπό εξέταση δείγμα περιέχει ουσίες με βιοκτόνο δράση, και σε επαρκή ποσότητα ώστε να αναστείλουν την μικροβιακή δραστηριότητα.
- B. Εάν παρατηρηθεί μεταβολή του χρώματος του δοκιμίου από μωβ σε κίτρινο, τότε το υπό εξέταση δείγμα δεν περιέχει επαρκή ποσότητα ουσιών με βιοκτόνο δράση ώστε να ανασταλεί η μικροβιακή δραστηριότητα, ή δεν περιέχει καμία ουσία με βιοκτόνο δράση [82].

Εικόνα 2-11: Δοκίμια (Αμπούλες) εμπορικού κιτ.



2.3 Προσδιορισμός περιεχόμενου FAME σε ντήζελ κίνησης

Η επίσημη μέθοδος προσδιορισμού περιεχόμενων μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων (FAME) σε δείγματα πετρελαίου κίνησης είναι η EN 14078, με χρήση φασματομετρίας μέσου υπέρυθρου φωτός (mid - infrared spectrometry).

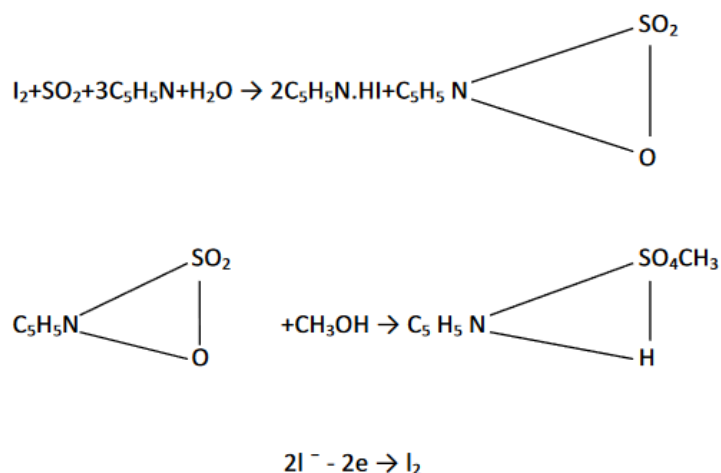
Ο προσδιορισμός της περιεκτικότητας σε FAME των δειγμάτων ντήζελ κίνησης που μελετήθηκαν, έγινε στο εργαστήριο τεχνολογίας καυσίμων και λιπαντικών με τη χρήση του IROX Diesel, φασματομέτρου υπέρυθρου (FTIR). Η αρχή λειτουργίας του φασματομέτρου βασίζεται στην αλληλεπίδραση μεταξύ φωτός και δείγματος. Συγκεκριμένα, το δείγμα εκτίθεται σε υπέρυθρο φως που προκαλεί αλλαγές στη διπολική ροπή του μορίου που μελετάται, δημιουργώντας δονήσεις. Συνήθως, μετράται η απορρόφηση του φωτός από το δείγμα σε σχέση με συχνότητα η οποία εκφράζεται από το νόμο των Lambert-Beer. Καθώς τα μόρια FAME έχουν διακριτά μοτίβα απορρόφησης στην υπέρυθρη περιοχή, το προκύπτον φάσμα εξετάζεται, και οι κορυφές απορρόφησης μπορούν να αναγνωριστούν. Συγκρίνοντας αυτές τις κορυφές με φάσματα αναφοράς γνωστών συγκεντρώσεων FAME, το IROX Diesel μπορεί να προσδιορίσει με ακρίβεια το ποσοστό FAME στο δείγμα [83].

Εικόνα 2-12: Συσκευή IROX Diesel [83].



2.4 Μέθοδος προσδιορισμού περιεκτικότητας σε νερό σε ντήζελ κίνησης

Η επίσημη μέθοδος προσδιορισμού περιεχόμενου νερού σε δείγματα πετρελαίου είναι η EN ISO 12937 με βάση την κουλομετρική τιτλοδότηση Karl-Fischer. Η τιτλοδότηση κατά Karl-Fischer είναι μια ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος ανάλυσης για τον ποσοτικό προσδιορισμό του νερού σε μεγάλο εύρος προϊόντων. Η αντίδραση στην οποία βασίζεται η μέθοδος είναι η εξής:



Κατά την αντίδραση αυτή καταναλώνεται το νερό, του υπό ανάλυση δείγματος, το οποίο αντιδρά σε πλήρη μοριακή αναλογία με το ιώδιο (1 mole νερού αντιδρά με 1 mole ιωδίου). Συνδυάζοντας την κουλομετρική τεχνική με την τιτλοδότηση Karl Fischer, η συσκευή μπορεί να καθορίσει την περιεκτικότητα του δείγματος σε νερό μετρώντας την ποσότητα του ρεύματος που απαιτείται για την παραγωγή του απαιτούμενου ιωδίου [84].

Εικόνα 2-13: Συσκευή μέτρησης περιεκτικότητας σε νερό στο ντήζελ κίνησης [84].



3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

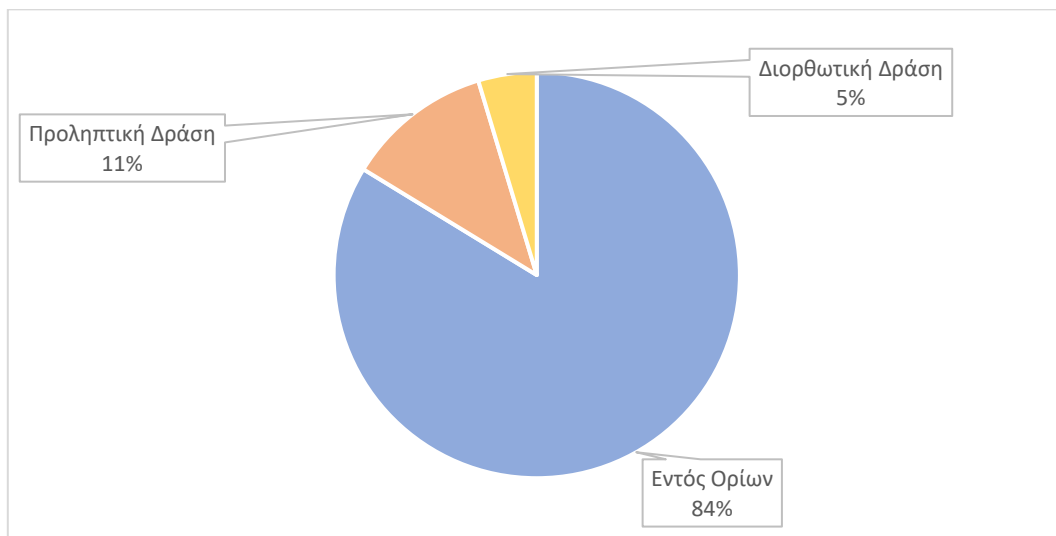
3.1 Εισαγωγή

Στην ανάλυση που ακολουθεί, παρουσιάζεται η προσπάθεια που έγινε στα πλαίσια της παρούσας διπλωματικής εργασίας για μια όσο πιο ολοκληρωμένη καταγραφή του μικροβιακού φορτίου διαφόρων δειγμάτων ντήζελ κίνησης της αγοράς, με σκοπό την μελέτη του προβλήματος της μικροβιακής επιμόλυνσης, των αιτιών εμφάνισης του και των πιθανών τρόπων αντιμετώπισης του. Τα δείγματα που υποβλήθηκαν σε έλεγχο σε αυτή τη μελέτη έχουν επιλεγεί ώστε να αντιπροσωπεύουν ένα ευρύ φάσμα των καυσίμων ντήζελ κίνησης που διακινούνται σε όλη την εφοδιαστική αλυσίδα καυσίμων. Με την αξιολόγηση αυτών των δειγμάτων, επιτεύχθηκε μια πρώτη ανάλυση του φαινομένου στις πραγματικές συνθήκες που υφίστανται στην αγορά καυσίμων, αλλά αποκτήθηκαν και σημαντικές πληροφορίες που μπορούν να αποτελέσουν θεμέλια για περεταίρω διερεύνηση, αξιολόγηση και συζήτηση σχετικά με την μικροβιακή επιμόλυνση στο ντήζελ κίνησης με σκοπό την βαθύτερη κατανόηση του φαινομένου.

3.2 Μελέτη μικροβιακής επιμόλυνσης σε διάφορα σημεία δειγματοληψίας

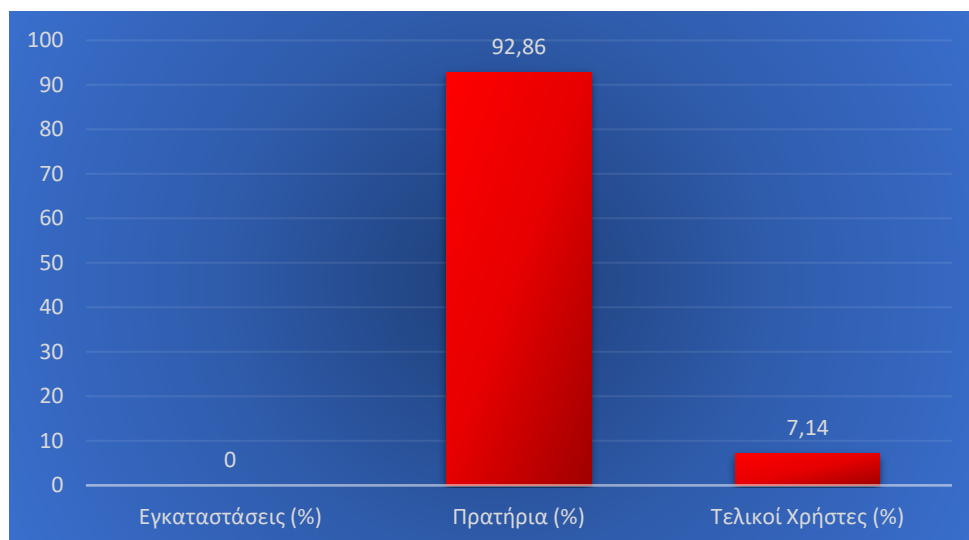
Από τα αποτελέσματα της καταγραφής του μικροβιακού φορτίου σε διάφορα δείγματα (αποτελέσματα παραρτήματος 1) προέκυψε ότι στο σύνολο των δειγμάτων που αναλύθηκαν, ένα ποσοστό ίσο με 16,3% βρέθηκε να έχει μικροβιακό φορτίο άνω του ορίου καλού ελέγχου όπως αναφέρεται στον Πίνακα 1-6. Αναλυτικότερα, το 11,6% του συνόλου των δειγμάτων βρισκόταν σε κατάσταση οπου συνιστάται η προληπτική δράση, γεγονός που αναδεικνύει μέτρια επιμόλυνση, ενώ για το 4,7% παρατηρήθηκε υψηλή επιμόλυνση και ως αποτέλεσμα δημιουργείται η ανάγκη για διορθωτική δράση.

Διάγραμμα 3-1: Μικροβιακό φορτίο δειγμάτων αγοράς.



Όσον αφορά την κατανομή των δειγμάτων τα οποία υπερβαίνουν το όριο των 10 pg ATP/ mL (προβληματικά δείγματα), παρατηρήθηκε πως το μεγαλύτερο μέρος αυτών, πάνω από το 90%, προερχόταν από πρατήρια και ένα μικρότερο ποσοστό περίπου 7% προερχόταν από τελικούς χρήστες, όπως φαίνεται και στο διάγραμμα 2-3.

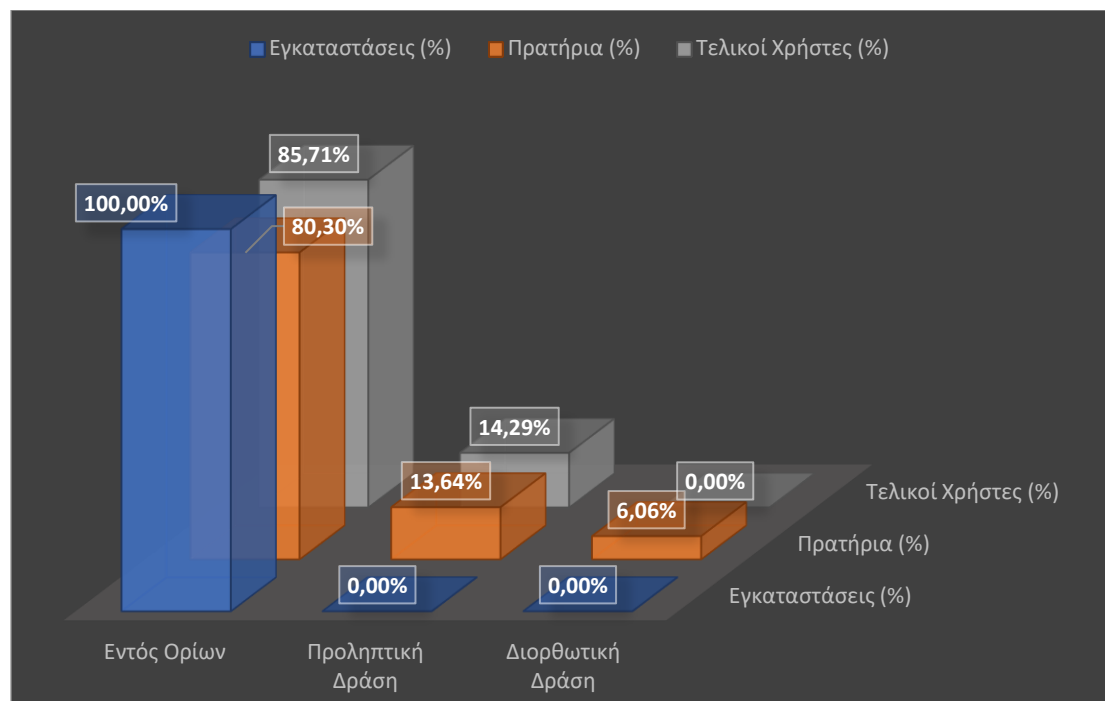
Διάγραμμα 3-2: Κατανομή προβληματικών δειγμάτων.



Μια πληρέστερη ερμηνεία για το φαινόμενο της μικροβιακής επιμόλυνσης σε διάφορα σημεία δειγματοληψίας προσφέρει το διάγραμμα 3-3, στο οποίο παρατηρείται καλύτερα ότι το πρόβλημα συναντάται σε παρόμοια ποσοστά τόσο στα πρατήρια, όσο και στους τελικούς χρήστες, με εξαίρεση τα δείγματα

που χρήζουν διορθωτικής δράσης, τα οποία ήταν περισσότερα στην περίπτωση των πρατηρίων.

Διάγραμμα 3-3: Κατανομή συνόλου δειγμάτων ανά σημείο δειγματοληψίας.



Πολύ σημαντικό είναι το γεγονός ότι σε κανένα από τα δείγματα εγκαταστάσεων που αναλύθηκαν δεν βρέθηκε μικροβιακή επιμόλυνση άνω του ορίου των 10 pg ATP/mL.

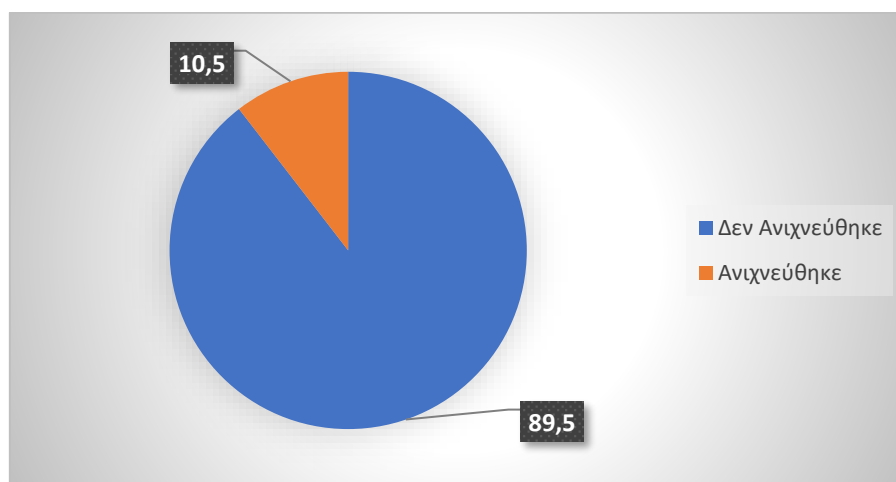
Αξίζει να σημειωθεί ότι:

- Ως δείγματα από τελικούς χρήστες αναφέρονται αυτά που προέρχονται από ντεπόζιτο αυτοκινήτου, δεξαμενές βιομηχανικών εγκαταστάσεων, και δεξαμενές βυτιοφόρων.
- Ως δείγματα πρατηρίων αναφέρονται αυτά που προέρχονται από δεξαμενές και αντλίες πρατηρίων.
- Ως δείγματα από εγκαταστάσεις αναφέρονται αυτά που προέρχονται από δεξαμενές εγκαταστάσεων αποθήκευσης καυσίμων.

3.3 Διερεύνηση χρήσης βιοκτόνων σε διάφορα σημεία δειγματοληψίας

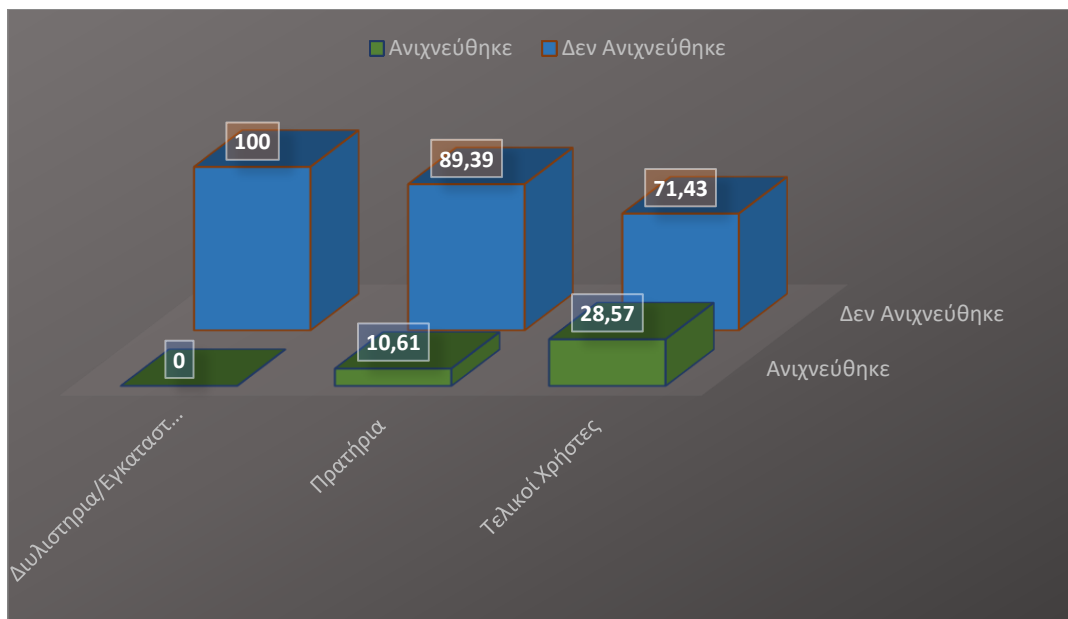
Από την ανάλυση των δειγμάτων, διαπιστώθηκε ότι σχεδόν στο 10% του συνόλου αυτών, ανιχνεύθηκε η παρουσία βιοκτόνων ουσιών. Το γεγονός αυτό αναδεικνύει ότι ένα υποσύνολο των καυσίμων ντήζελ κίνησης είχε υποστεί επεξεργασία με βιοκτόνα, ενδεχομένως για να προληφθεί, ή να αντιμετωπισθεί η μικροβιακή ανάπτυξη, καθώς σε όλες τις περιπτώσεις το μικροβιακό φορτίο βρέθηκε σε πολύ χαμηλά επίπεδα.

Διάγραμμα 3-4: Παρουσία βιοκτόνου επι του συνόλου των δειγμάτων.



Πάνω από το 75% των δειγμάτων στα οποία ανιχνεύθηκε παρουσία βιοκτόνων ουσιών προερχόταν από πρατήρια, ενώ το υπόλοιπο ποσοστό προερχόταν από τελικούς χρήστες. Το ποσοστό αυτό αποτελεί μια σημαντική πληροφορία για τα σημεία της εφοδιαστικής αλυσίδας όπου γίνεται χρήση βιοκτόνων. Στο διάγραμμα 3-5 λαμβάνεται μια πιο αντιπροσωπευτική εικόνα της κατάστασης σχετικά με την χρήση των βιοκτόνων στο ντήζελ κίνησης, αφού αναδεικνύονται τα ποσοστά χρήσης τους ανά σημείο δειγματοληψίας.

Διάγραμμα 3-5: Ποσοστά ανίχνευσης βιοκτόνου ανά σημείο δειγματοληψίας.



Αναλυτικότερα, παρατηρείται ότι στην περίπτωση των δειγμάτων πρατηρίων η χρήση των βιοκτόνων ανέρχεται σε ποσοστό πάνω από 10%, ενώ στην περίπτωση των δειγμάτων τελικών χρηστών το ποσοστό εμφανίζεται σαφώς πιο αυξημένο και συγκεκριμένα κοντά στο 30%. Είναι εμφανές ότι γίνεται χρήση βιοκτόνων αρκετά πιο συχνά από ότι στις περιπτώσεις των πρατηρίων. Ταυτόχρονα, παρατηρείται ότι στην περίπτωση των εγκαταστάσεων δεν ανιχνεύθηκε η χρήση βιοκτόνων.

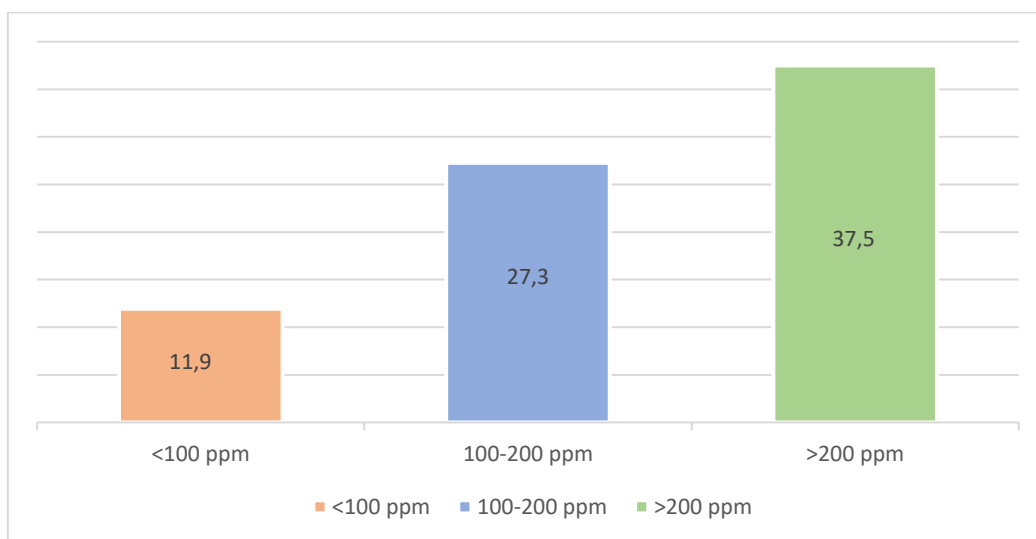
Αξίζει να αναφερθεί ότι τα αποτελέσματα αυτά αφορούν αποκλειστικά την ανίχνευση της παρουσίας βιοκτόνων ουσιών σύμφωνα με τη συγκεκριμένη μέθοδο. Η αδυναμία ανίχνευσης από την μέθοδο αυτή δεν σημαίνει αυτόματα και απουσία ύπαρξης βιοκτόνων ουσιών στα δείγματα, γι' αυτό και τα ποσοστά αυτά αναφέρονται ως ενδεικτικά-αντιπροσωπευτικά. Ωστόσο, υποδηλώνει την απουσία ικανής ποσότητας βιοκτόνου που να αναστέλλει την ανάπτυξη μικροοργανισμών.

3.4 Μελέτη μικροβιακής επιμόλυνσης σε δείγματα σε σχέση με την υγρασία

Όπως ήδη αναφέρθηκε στην παράγραφο 1.5.2, η ύπαρξη νερού μπορεί να αποτελέσει ευνοϊκή συνθήκη για την ανάπτυξη μικροοργανισμών στο ντήζελ κίνησης. Κρίθηκε λοιπόν σκόπιμο στα δείγματα που αναλύθηκαν να ληφθούν υπόψιν και τα αποτελέσματα των μετρήσεων περιεκτικότητας σε νερό. Για την διευκόλυνση της μελέτης της μικροβιακής ανάπτυξης, τα δείγματα ταξινομήθηκαν σε τρεις κατηγορίες με βάση την περιεκτικότητά τους σε νερό ως εξής:

- <100 ppm : δείγματα με χαμηλή περιεκτικότητα σε νερό.
- 100-200 ppm : δείγματα με μέτρια περιεκτικότητα σε νερό.
- >200 ppm : δείγματα με υψηλή περιεκτικότητα σε νερό (εκτός προδιαγραφών).

Διάγραμμα 3-6: Ποσοστά δειγμάτων με μικροβιακό φορτίο > 10 pg ATP/mL.



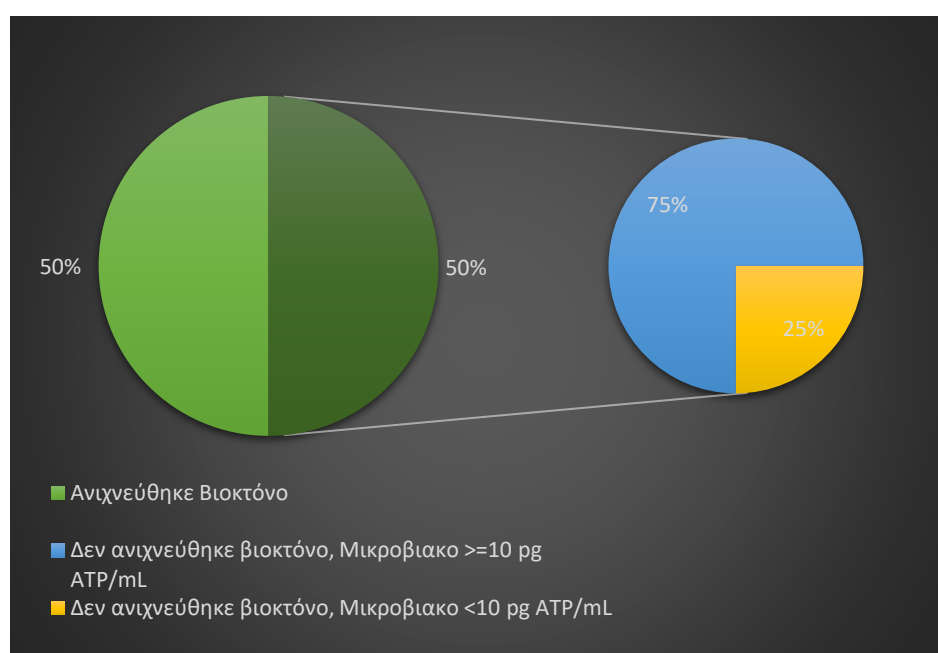
Όπως φαίνεται και στο διάγραμμα 3-6, από την ανάλυση των αποτελεσμάτων προέκυψε ότι το ποσοστό των δειγμάτων με μικροβιακό φορτίο μεγαλύτερο από 10 pg ATP/mL, όταν η περιεκτικότητα σε νερό βρίσκεται σε χαμηλά επίπεδα (<100 ppm) ανέρχεται σε σχεδόν 12%. Στην περίπτωση των δειγμάτων που βρέθηκαν με πιο αυξημένη περιεκτικότητα σε νερό (100-200 ppm) το ποσοστό αυτό αυξάνεται αισθητά και ανέρχεται σε 27,3%. Τέλος, στις περιπτώσεις δειγμάτων εκτός προδιαγραφής στο περιεχόμενο νερό (>200

ppm), το ποσοστό αυξάνεται ακόμη περισσότερο και ανέρχεται πλέον στο 37,5 % των δειγμάτων.

3.5 Μελέτη μικροβιακής επιμόλυνσης σε δείγματα εκτός προδιαγραφής σε υγρασία – επίδραση χρήσης βιοκτόνων

Κατ' επέκταση της προηγούμενης παραγράφου η ανάλυση εστιάστηκε στην μελέτη των δειγμάτων που βρέθηκαν εκτός προδιαγραφής στο περιεχόμενο νερό (περιεκτικότητα σε νερό > 200 ppm). Από την μελέτη αυτή, προέκυψε ότι στο 50% των δειγμάτων αυτών έγινε χρήση βιοκτόνων με σκοπό την πρόληψη ή αντιμετώπιση κατά της μικροβιακής ανάπτυξης.

Διάγραμμα 3-7: Καταγραφή μικροβιακού φορτίου και ανίχνευση βιοκτόνου σε δείγματα εκτός προδιαγραφής σε νερό.



Στο υπόλοιπο 50%, όπου δεν ανιχνεύθηκε ύπαρξη ουσιών με βιοκτόνο δράση, παρατηρήθηκε ότι το 75% αυτών αφορούσε δείγματα που εμφάνισαν μικροβιακό φορτίο μεγαλύτερο από 10 pg ATP/ mL. Έτσι, απαιτούνταν η λήψη προληπτικών ή διορθωτικών δράσεων αναλόγως την έκταση της μικροβιακής επιμόλυνσης. Στο 25% των δειγμάτων εκτός προδιαγραφής σε νερό, στα οποία δεν ανιχνεύθηκε η παρουσία βιοκτόνων, δεν παρατηρήθηκε

ύπαρξη μικροβιακής επιμόλυνσης. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι όλες τις περιπτώσεις που ανιχνεύθηκε ύπαρξη βιοκτόνων ουσιών επί του συνόλου των δειγμάτων που αναλύθηκαν, δεν παρατηρήθηκε ύπαρξη υψηλού μικροβιακού φορτίου (άνω των 10 pg ATP/ mL).

3.6 Μελέτη μικροβιακής επιμόλυνσης σε σχέση με α) την περιεκτικότητα σε FAME και β) τον χρόνο αποθήκευσης

Περιεκτικότητα σε FAME

Αναγνωρίζοντας την επιρροή που η ύπαρξη των FAME (μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων) στη μικροβιακή επιμόλυνση των δειγμάτων πετρελαίου κίνησης, έγινε προσπάθεια συσχέτισης μεταξύ των δύο. Ωστόσο, καθώς η πλειονότητα των δειγμάτων που αναλύθηκαν, εμφάνιζαν παρόμοια ποσοστά περιεκτικότητας σε FAME (από 6% έως 7%), η ικανότητά διάκρισης συσχετισμών στα δείγματα κατέστη δύσκολη, με αποτέλεσμα την αδυναμία εξαγωγής συμπερασμάτων σχετικά με το πώς τα διαφορετικά επίπεδα FAME μπορεί να επηρεάσουν τη μικροβιακή επιμόλυνση.

Χρόνος Αποθήκευσης

Η διάρκεια αποθήκευσης του καυσίμου αποτελεί έναν ακόμα παράγοντα που μπορεί να συμβάλει στην εμφάνιση μικροβιακής ανάπτυξης. Όταν το καύσιμο παραμένει αποθηκευμένο για παρατεταμένες περιόδους, η πιθανότητα αύξησης του μικροβιακού φορτίου και εμφάνισης μυκητολόσσπης κλιμακώνεται. Έτσι, με σκοπό την βαθύτερη κατανόηση του φαινομένου της μικροβιακής ανάπτυξης, καταγράφηκε ο χρόνος στον οποίο τα δείγματα ντήζελ διατηρήθηκαν αποθηκευμένα. Αξίζει να σημειωθεί ότι αυτός ο χρόνος αποθήκευσης αφορά αποκλειστικά το διάστημα μεταξύ της ημέρας δειγματοληψίας του δείγματος και της ημέρας μέτρησης του μικροβιακού φορτίου.

Το σύνολο των δειγμάτων αποθηκεύτηκαν για περίοδο από 17 έως 175 ημέρες. Είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι, παρά τις διάφορες χρονικές περιόδους κατά τις οποίες αποθηκεύτηκαν τα δείγματα, δεν προέκυψε

εμφανής συσχέτιση μεταξύ της διάρκειας αποθήκευσης και της μικροβιακής επιμόλυνσης.

3.7 Ανάλυση της μικροβιακής επιμόλυνσης και της χρήσης βιοκτόνων με βάση την περιοχή προέλευσής των δειγμάτων

Η καταγραφή και ανάλυση δεδομένων σχετικά με τη γεωγραφική προέλευση των δειγμάτων είχε ως αρχικό στόχο να διάκριση πιθανών συσχετισμών μεταξύ της περιοχής δειγματοληψίας και της μικροβιακής επιμόλυνσης. Παρά την ολοκληρωμένη ανάλυση ενός αξιολογού αριθμού δειγμάτων από διάφορες περιοχές σε σχεδόν όλη την Ελλάδα, υπήρξε αδυναμία συσχετισμού της μικροβιακής επιμόλυνσης με αίτια που να αποδίδονται αποκλειστικά σε γεωγραφικούς παράγοντες. Έτσι η εξέταση αποκάλυψε την έλλειψη εμφανούς συσχέτισης μεταξύ της μικροβιακής επιμόλυνσης και της περιοχής προέλευσης των δειγμάτων.

Οι πληροφορίες που συλλέχθηκαν για την γεωγραφική κατανομή αξιοποιήθηκαν επιπλέον και για την διερεύνηση ύπαρξης πιθανών συσχετισμών με την έκταση χρήσης των βιοκτόνων ανά περιοχή. Μετά την ανάλυση των δεδομένων ωστόσο, δεν προέκυψε η ύπαρξη σαφούς σύνδεσης.

4 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

4.1 Εισαγωγή: Εξερεύνηση συσχέτισης και ανάλυση της επιρροής διάφορων παραγόντων στην μικροβιακή ανάπτυξη

Στα πλαίσια της καλύτερης κατανόησης του περίπλοκου φαινομένου της μικροβιακής επιμόλυνσης, η μελέτη επεκτάθηκε πέρα από την απλή καταγραφή του μικροβιακού φορτίου των δειγμάτων. Αναγνωρίστηκε η σημασία της διερεύνησης μιας σειράς διαφορετικών παραγόντων, καθένας από τους οποίους ενδεχομένως να επηρεάζει την μικροβιακή ανάπτυξη. Έτσι,

παράλληλα με την καταγραφή του μικροβιακού φορτίου στα δείγματα, συλλέχθηκαν και πληροφορίες για διάφορα στοιχεία μεταξύ των οποίων, η περιεκτικότητα τους σε FAME, η περιεκτικότητά τους σε νερό, η χρήση βιοκτόνων, ο χρόνος αποθήκευσης, τα σημεία δειγματοληψίας τους και η περιοχή προέλευσης του καθενός. Περιλαμβάνοντας τις μεταβλητές αυτές, στην παρούσα διπλωματική εργασία διερευνήθηκε η ύπαρξη πιθανού συσχετισμού τους με την παρουσία και τον πολλαπλασιασμό των μικροοργανισμών.

Επιπλέον, αξίζει να σημειωθεί ότι συλλέχθηκαν πληροφορίες σχετικά με διάφορες μετρήσεις που διεξάγονται σε δείγματα ντήζελ κίνησης, οι οποίες αποδεικνύουν εάν αυτά είναι κατάλληλα για διακίνηση στο εμπόριο καυσίμων (Πίνακες παραρτήματος 2). Σκοπός της συλλογής αυτών των πληροφοριών για μερικά από τα δείγματα που αναλύθηκαν ήταν ακριβώς η απόδειξη ότι η μελέτη διεξήχθη για δείγματα της αγοράς καυσίμων.

4.2 Μικροβιακή επιμόλυνση – Σημείο Δειγματοληψίας

Η ανάλυση των αποτελεσμάτων στα δείγματα καυσίμων αποκάλυψε ότι το πρόβλημα της μικροβιακής επιμόλυνσης στο ντήζελ κίνησης υφίσταται. Παρά τις λίγες περιπτώσεις (συγκριτικά με τον συνολικό αριθμό δειγμάτων) που διαπιστώθηκε η ύπαρξη μικροβιακού φορτίου, η ανάγκη για επαγρύπνηση και λήψη μέτρων παρακολούθησης και παρέμβασης παραμένει ζητούμενο το οποίο δεν χωρά αδιαφορία.

Η ύπαρξη του προβλήματος συναντήθηκε κυρίως σε δείγματα από πρατήρια και λιγότερο σε δείγματα από τελικούς χρήστες. Σημειώνεται δε ότι το μεγαλύτερο μέρος των δειγμάτων προέρχονταν από πρατήρια. Ωστόσο, η ύπαρξη του προβλήματος και στους τελικούς χρήστες δεν μπορεί να αναιρεθεί. Αντιθέτως, επιβεβαιώνεται ουσιαστικά και από το διάγραμμα 3-3, όπου τα ποσοστά προβληματικών δειγμάτων (>10 pg ATP/ mL) ανέρχονται σε αντίστοιχα με αυτά των πρατηρίων.

Όσον αφορά τις περιπτώσεις των εγκαταστάσεων δεν παρατηρήθηκε η ύπαρξη μικροβιακής επιμόλυνσης σε κανένα από τα δείγματα που εξετάστηκαν. Αυτό μπορεί να συμβαίνει εξαιτίας διάφορων παραγόντων

όπως είναι ο χρόνος αποθήκευσης του καυσίμου στις δεξαμενές. Σε περιπτώσεις μικρών χρόνων αποθήκευσης η μυκητολόσση δεν προλαβαίνει να εναποτεθεί στα τοιχώματα των δεξαμενών και η ανάπτυξη των μικροοργανισμών δυσχεραίνεται. Επιπλέον, μπορεί στις εγκαταστάσεις να τηρούνται πρακτικές που προτείνονται ως λύσεις κατά της μικροβιακής επιμόλυνσης, όπως αυτές που αναφέρονται στην παράγραφο 1.5.4 και αφορούν, π.χ. τον καθαρισμό των δεξαμενών ανά τακτά χρονικά διαστήματα, την απομάκρυνση του νερού από τον πυθμένα αλλά και την χρήση διάφορων φίλτρων για τον καθαρισμό του καυσίμου. Τέλος, μια άλλη αιτία για την απουσία μικροβιακής ανάπτυξης στις εγκαταστάσεις μπορεί να είναι ο μικρός αριθμός δειγμάτων που εξετάστηκε.

4.3 Βιοκτόνο – Σημείο Δειγματοληψίας

Στην περίπτωση των βιοκτόνων παρατηρήθηκε χρήση σε σχετικά μικρά ποσοστά επί του συνολικού αριθμού των δειγμάτων. Η περιορισμένη χρήση τους ωστόσο, μπορεί να απορρέει από την απουσία αναγκαιότητας για προληπτική εφαρμογή πιθανόν λόγω του σύντομου χρόνου αποθήκευσης ή και της χαμηλής περιεχόμενης υγρασίας. Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων προέκυψε ότι η χρήση βιοκτόνων λάμβανε χώρα κυρίως στις περιπτώσεις των πρατηρίων, και σε μεγαλύτερα ποσοστά στους τελικούς χρήστες. Αποτέλεσμα απολύτως λογικό, αφού τα πρατήρια και κυρίως οι τελικοί χρήστες (π.χ. οδηγοί φορτηγών) είναι αυτοί που επηρεάζονται πιο άμεσα από τις επιπτώσεις της μικροβιακής επιμόλυνσης και ως επακόλουθο είναι πιο προβληματισμένοι από την ύπαρξη του φαινομένου αυτού. Στο διάγραμμα 3-5 δίνεται μια εικόνα από τα παραπάνω δεδομένα, αφού στην περίπτωση των τελικών χρηστών η χρήση των βιοκτόνων ανέρχεται σε σχεδόν 30%, ποσοστό σαφέστατα πιο μεγάλο από το 10% που προέκυψε για τις περιπτώσεις των πρατηρίων.

Σε κανένα από τα δείγματα των εγκαταστάσεων δεν κατέστη δυνατή η ανίχνευση της παρουσίας βιοκτόνων. Η πρώτη αιτία στην οποία μπορεί να αποδοθεί το αποτέλεσμα αυτό, αφορά την αδυναμία ανίχνευσης της παρουσίας των ουσιών από την χρησιμοποιούμενη μέθοδο, δηλαδή, μπορεί να γίνεται χρήση βιοκτόνων, αλλά σε μικρές ποσότητες, και έτσι να μην είναι

δυνατή η ανίχνευση τους. Η δεύτερη αιτία αφορά την μη χρήση βιοκτόνων ουσιών για την αντιμετώπιση της μικροβιακής ανάπτυξης, αφού μπορεί να μην είναι αναγκαίο εάν τηρούνται οι πρακτικές που αναφέρονται στην παράγραφο 1.5.4. Σημειώνεται δε ο μικρός αριθμός δειγμάτων που αναλύθηκαν. Η δεύτερη αιτιολόγηση φαίνεται να είναι η πιθανότερη, αφού σε κάθε περίπτωση ανάλυσης των δειγμάτων από εγκαταστάσεις, είτε αυτή αφορούσε την μέτρηση μικροβιακού φορτίου είτε την ανίχνευση βιοκτόνου, δεν βρέθηκε κανένα δείγμα που να είχε είτε μικροβιακό φορτίο άνω των 10 pg ATP / mL είτε να περιείχε ουσίες με βιοκτόνο δράση.

4.4 Μικροβιακή επιμόλυνση – Υγρασία

Από την μελέτη των δειγμάτων προέκυψε ότι το νερό παραμένει μια σημαντική αιτία εμφάνισης του φαινομένου της μικροβιακής επιμόλυνσης. Αποτέλεσμα απολύτως λογικό αφού όπως αναλύθηκε και στην θεωρία η παρουσία του συντελεί καταλυτικά στην ανάπτυξη και ευημερία των μικροοργανισμών. Αναλυτικότερα, μετά από κατηγοριοποίηση των δειγμάτων ως προς την περιεκτικότητά τους σε νερό, παρατηρήθηκε ότι τα ποσοστά των δειγμάτων που είχαν μικροβιακό φορτίο άνω των 10 pg ATP/mL, αυξάνονταν όσο αυξάνονταν και η περιεχόμενη υγρασία.

4.5 Μικροβιακή επιμόλυνση - Υγρασία εκτός προδιαγραφής – Βιοκτόνο

Ως συνέχεια της μελέτης της επιρροής που έχει η περιεκτικότητα σε νερό στην μικροβιακή επιμόλυνση του ντήζελ κίνησης, αναλύθηκαν τα δεδομένα που προέκυψαν από την μέτρηση του μικροβιακού φορτίου σε δείγματα εκτός προδιαγραφής σε νερό (> 200 ppm). Τα δεδομένα που προέκυψαν, αρχικά ενισχύουν αναμφίβολα τον ισχυρισμό για τον σημαντικό ρόλο που διαδραματίζει η παρουσία νερού, σε ποσότητες μεγαλύτερες των επιτρεπτών ορίων, στην όξυνση του φαινομένου της μικροβιακής ανάπτυξης. Επιπλέον, θέτουν παρατηρήσεις για την ικανοποιητική αποτελεσματικότητα που έχει η χρήση των βιοκτόνων, αφού σε κάθε περίπτωση που συναντήθηκε η χρήση τους σε δείγματα εκτός προδιαγραφής σε περιεχόμενο νερό, το μικροβιακό

φορτίο βρέθηκε σε αμελητέα επίπεδα. Τέλος, η αδυναμία ανίχνευσης βιοκτόνων ουσιών ταυτόχρονα με την απουσία μικροβιακής επιμόλυνσης στα δείγματα εκτός προδιαγραφής σε περιεχόμενο νερό, μπορεί να αποδοθεί σε διάφορες αιτίες όπως: αδυναμία της μεθόδου ανίχνευσης βιοκτόνων και μικρός χρόνος αποθήκευσης του καυσίμου πριν την ανάλυση (ανεπαρκές χρονικό διάστημα για την μικροβιακή ανάπτυξη).

4.6 Μικροβιακή επιμόλυνση – Περιεκτικότητα σε FAME – Χρόνος αποθήκευσης

Γνωρίζοντας τον σημαντικό ρόλο που διαδραματίζει η περιεκτικότητα σε FAME του ντήζελ κίνησης, στην μικροβιακή επιμόλυνση, κρίθηκε αναγκαίο να γίνει προσπάθεια ανάλυσης της ύπαρξης πιθανού συσχετισμού. Ωστόσο, καθώς σε όλα τα δείγματα που αναλύθηκαν, η περιεκτικότητα σε FAME ανέρχονταν σε παρόμοια ποσοστά, δεν κατέστη εφικτή η παρατήρηση ύπαρξης κάποιας διαφοροποίησης η οποία να μπορεί να συσχετισθεί με την μικροβιακή επιμόλυνση.

Ταυτόχρονα, κατά την προσπάθεια ανάλυσης της πιθανής επίδρασης της διάρκειας αποθήκευσης στα καύσιμα, και παρά τις σημαντικές διακυμάνσεις που παρατηρήθηκαν στους χρόνους αποθήκευσης (από 2 έως 90 ημέρες) μεταξύ των δειγμάτων που ξανά αναλύθηκαν (πίνακας παραρτήματος 3), δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ της μικροβιακής μόλυνσης και της διάρκειας αποθήκευσης. Το αποτέλεσμα αυτό ωστόσο, πιθανόν να μην είναι αντιπροσωπευτικό εξαιτίας των διαφορών που μπορεί να υπάρχουν μεταξύ των συνθηκών αποθήκευσης που επικρατούν στο εργαστήριο, στα πρατήρια, στις εγκαταστάσεις και στο ντεπόζιτο αυτοκινήτων.

4.7 Μικροβιακή Επιμόλυνση - Βιοκτόνο - Περιοχή Προέλευσης

Κατά την προσπάθεια συσχέτισης του μικροβιακού φορτίου με την περιοχή προέλευσης των δειγμάτων, παρουσιάστηκαν προκλήσεις οι οποίες κατέστησαν ανέφικτη την εξαγωγή συμπερασμάτων. Αυτό συνέβη, αφού μετά

από μελέτη των αποτελεσμάτων που προέκυψαν, παρατηρήθηκε η ύπαρξη παρόμοιας εικόνας στις περισσότερες περιοχές της Ελλάδας.

Παράλληλα, τα αποτελέσματα που αναλύθηκαν για την διερεύνηση πιθανών συσχετισμών μεταξύ τοποθεσίας και έκτασης χρήσης βιοκτόνων, πιθανόν να προέκυψαν εξαιτίας παρόμοιων παραγόντων με αυτούς που αναλύθηκαν στην προηγούμενη παράγραφο. Ως εκ τούτου, η επικράτηση μιας παρόμοιας κατάστασης στην πλειονότητα των περιοχών της χώρας περιόρισε την ικανότητα εξαγωγής παρατηρήσεων σχετικά με την χρήση βιοκτόνων ανά περιοχή.

Τελικά, αυτά τα αποτελέσματα υπογραμμίζουν την πολύπλευρη φύση της παρούσας μελέτης, υποδεικνύοντας ότι μια ολοκληρωμένη κατανόηση του φαινομένου της μικροβιακής επιμόλυνσης και της χρήσης βιοκτόνων απαιτεί περαιτέρω εξερεύνηση και ευρύτερες εκτιμήσεις που να περιλαμβάνουν μια σειρά μεταβλητών πέρα από τη γεωγραφική προέλευση.

5 ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ

Μετά τον εντοπισμό των προκλήσεων και ζητημάτων που εμφανίστηκαν κατά τη διεξαγωγή της παρούσας διπλωματικής εργασίας, κρίθηκε σημαντική η αναφορά σε αυτά, καθώς χρήζουν περαιτέρω εξερεύνησης και μπορεί να αποτελέσουν αντικείμενο για μελλοντικές ερευνητικές προσπάθειες, που θα στοχεύουν στην εμβάθυνση της κατανόησής και στην τελειοποίηση των λύσεων σχετικά με το φαινόμενο της μικροβιακής ανάπτυξης στο ντήζελ κίνησης. Στο πλαίσιο αυτό, παρακάτω παρουσιάζονται συνοπτικά οι προτάσεις που προέκυψαν για μελλοντική έρευνα :

- Μελέτη της μικροβιακής επιμόλυνσης και με την χρήση διαφορετικής μεθόδου (ASTM D7463-21), και σύγκριση διαφορών που μπορεί να προκύπτουν με την χρησιμοποιούμενη μέθοδο στη παρούσα μελέτη.
- Περεταίρω εξερεύνηση της έκτασης χρήσης βιοκτόνων σε μεγαλύτερο αριθμό δειγμάτων.

- Εμβάθυνση της μελέτης ανά συγκεκριμένες περιοχές και σε συγκεκριμένα σημεία δειγματοληψίας (π.χ. εξέταση περισσότερων δειγμάτων από τελικούς χρήστες και εγκαταστάσεις).
- Επέκταση της μελέτης σε περισσότερα δείγματα που τυχόν θα βρεθούν εκτός προδιαγραφής σε περιεκτικότητα σε νερό.
- Διερεύνηση της δυνατότητας ποσοτικού προσδιορισμού βιοκτόνων με την χρησιμοποιούμενη μέθοδο.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Kopp, O.C. "fossil fuel". Encyclopedia Britannica, <https://www.britannica.com/science/fossil-fuel>.
- [2] Λόης Ε., Ζαννίκος Φ., Καρώνης Δ. (2014). Τεχνολογία Καυσίμων και Λιπαντικών. Εργαστήριο Τεχνολογίας Καυσίμων και Λιπαντικών, ΕΜΠ.
- [3] Τάγαρης Κ. (2021). ΤΟ «ΒΙΟΝΤΙΖΕΛ» ΚΑΙ Η ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΤΟΥ. (Διπλωματική Εργασία, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο).
- [4] Lois E., Keating E.L., Gupta A.K. (2003). Encyclopedia of Physical Science and Technology (Third Edition).
- [5] Πέππας, Μ. (2018). ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΧΡΟΝΟΥ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ ΣΤΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΥΠΟΒΑΘΜΙΣΗ ΤΟΥ ΒΙΟΝΤΗΖΕΛ ΚΑΙ ΤΟΥ ΜΕΙΓΜΑΤΟΣ Β7, (Διπλωματική Εργασία, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο).
- [6] European Committee for Standardization. (2013). EN 590:2013 Automotive fuels - Diesel - Requirements and test methods. Brussels, Belgium: European Committee for Standardization.
- [7] Srivastava N.K., Nandan N.K. (2012). Microbial growth control in diesel by optimization of sulphur. Avestia Publishing, International Journal of Environmental Pollution and Remediation.1. <https://doi.org/10.11159/ijep.2012.017>.
- [8] Karakurt I., Aydin G. (2023). Development of regression models to forecast the CO2 emissions from fossil fuels in the BRICS and MINT countries. Energy. Volume 263, Part A, <https://doi.org/10.1016/j.energy.2022.125650>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0360544222025361>).
- [9] BP. (2022). Statistical review of world energy 2021. (<https://www.bp.com/en/global/corporate/energy-economics/statistical-review-of-world-energy.html>).
- [10] Ευρωπαϊκός Οργανισμός Περιβάλλοντος. (2021). Εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου ανά χώρα και τομέα. <https://www.europarl.europa.eu/news/el/headlines/society/20180301STO98928/ekpompes-aerion-tou-thermokipiou-ana-chora-kai-tomea-grafima>.
- [11] Climate Watch, the World Resources Institute (2020).

- [12] Denchak, M. (2022). Fossil Fuels: The Dirty Facts. NRDC. [Accessed 01 March 2023]. (<https://www.nrdc.org/stories/fossil-fuels-dirty-facts#sec-disadvantages>)
- [13] Turgeon A., Morse E. Biomass Energy | National Geographic Society. National Geographic. (<https://education.nationalgeographic.org/resource/biomass-energy/>), [Accessed 8 March 2023]
- [14] Michael K, Steffi N, Peter D. (2011). The past, present, and future of biofuels—biobutanol as promising alternative. In Biofuel production—recent developments and prospects, (ed. MA dosSantos). pp. 451–486. Rijeka, Croatia, InTech.
- [15] Filimonau V. (2018). Historical Perspectives on Biofuels. Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences. doi:10.1016/b978-0-12-409548-9.11714-2.
- [16] Πασσάδης Κ. (2019). ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΔΥΝΑΜΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΒΙΟΝΤΗΖΕΛ ΑΠΟ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΠΗΓΕΣ ΒΙΟΑΠΟΒΛΗΤΩΝ: ΑΣΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ. (Διπλωματική Εργασία, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο (ΕΜΠ)). Αθήνα.
- [17] Jeswani H. K., Chilvers A., Azapagic A. (2020). Environmental Sustainability of Biofuels: A Review. Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences. royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rspa.2020.0351, <https://doi.org/10.1098/rspa.2020.0351>. [Accessed 15 March 2023].
- [18] Alam M. S., Tanveer M. S. (2020). Conversion of biomass into biofuel: a cutting-edge technology. Bioreactors. pp. 55–74. doi:10.1016/b978-0-12-821264-6.00005-x.
- [19] Νατσιός Δ. Ι. (2015). ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΒΙΟΚΑΥΣΙΜΩΝ 2ΗΣ ΓΕΝΙΑΣ ΚΑΙ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΙΣ ΕΚΠΟΜΠΕΣ ΡΥΠΩΝ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ ΚΑΥΣΙΜΟΥ ΚΙΝΗΤΗΡΑ DIESEL ΑΥΤΟΚΙΝΗΤΟΥ. (Διπλωματική Εργασία, ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ (ΑΠΘ)).
- [20] Dragone G., Fernandes B., Vicente A. A. & Teixeira J. A. Third generation biofuels from microalgae, technology and education topics in microbiology microbial biotechnology. A. Mendez-Vilas. Edition 2010.

- [21] Σοφοκλέους Μ. (2021) ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΗ ΠΡΟΤΑΣΗ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗΣ ΠΡΑΣΙΝΩΝ ΚΛΑΔΕΜΑΤΩΝ ΠΡΟΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΒΙΟΚΑΥΣΙΜΩΝ. (Διπλωματική Εργασία, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο (ΕΜΠ)).
- [22] Oehlschlaeger M. A., Wang H., Sexton M. N. (2013). Prospects for Biofuels: A Review. *Journal of Thermal Science and Engineering Applications*. <https://doi.org/10.1115/1.4023602>.
- [23] Abdullah B., Syed Muhammad S.A.F., Shokravi Z., Ismail S., Kassim K.A., Mahmood A.N. and Aziz M.M.A. (2019). Fourth generation biofuel: A review on risks and mitigation strategies. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 107, pp.37–50. doi: 10.1016/j.rser.2019.02.018.
- [24] Shokravi H., Shokravi Z., Heidarrezaei M., Ong H. C., Rahimian Kolor S. S., Petru M., Lau W. J., Ismail A. F. (2021). Fourth generation biofuel from genetically modified algal biomass: Challenges and future directions. *Chemosphere*, 285, 131535, doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.131.
- [25] Lü J., Sheahan C., & Fu P. (2011). Metabolic engineering of algae for fourth generation biofuels production. *Energy & Environmental Science*, 4(7), 2451, doi:10.1039/c0ee00593b.
- [26] Demirbas, A. (2009). Political, economic and environmental impacts of biofuels: A review. *Applied Energy*, 86(1), S108-S117.
- [27] Knothe, G., Van Gerpen, J., & Krahl, J. (2010). *The Biodiesel Handbook*. Urbana, Illinois: AOCS Press.
- [28] Koberg, M., & Gedanken, A. (2013). Using Microwave Radiation and SrO as a Catalyst for the Complete Conversion of Oils, Cooked Oils, and Microalgae to Biodiesel. *New and Future Developments in Catalysis*, 209–227. doi:10.1016/b978-0-444-53878-9.00010-2.
- [29] Knothe, G. (2005). Dependence of biodiesel fuel properties on the structure of fatty acid alkyl esters. *Fuel Processing Technology*, 86(10), 1059-1070. doi: 10.1016/j.fuproc.2004.11.002.
- [30] F.M. Bento, C.C. Gaylarde. (2001) Biodeterioration of stored diesel oil: studies in Brazil, *Int. Biodeterior. Biodegr.* 47, 107–112.
- [31] United States Department of Energy. (2019). *Biodiesel Handling and Use Guide (5th edition)*. DOE/GO-102019-5232.

- [32] Sheehan, J., Camobreco, V., Duffield, J., Graboski, M., & Shapouri, H. (1998). Life cycle inventory of biodiesel and petroleum diesel for use in an urban bus. Final report. National Renewable Energy Laboratory.
- [33] U.S. Department of Energy. (2019). Biodiesel basics. Retrieved from <https://afdc.energy.gov/publications/search/keyword/?q=biodiesel%20basics>.
- [34] Topare, N.S., Jogdand, R.I., Shinde, H.P., More, R.S., Khan, A. and Asiri, A.M. (2022). A short review on approach for biodiesel production: Feedstock's, properties, process parameters and environmental sustainability. *Materials Today: Proceedings*, 57, pp.1605–1612. doi: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.12.216>.
- [35] European Committee for Standardization. (2003). EN 14214: Automotive fuels - Fatty acid methyl esters (FAME) for diesel engines - Requirements and test methods. Brussels, Belgium: European Committee for Standardization.
- [36] Anon. (2011) Biodiesel basics. Washington, D.C: U.S. Department of Energy, Office of Energy Efficiency & Renewable Energy, Vehicle Technologies Program.
- [37] All About Biofuels. (n.d.). Fourth Generation Biofuels. Retrieved from <https://allaboutbiofuels.wixsite.com/biofuels/fourth-generation>.
- [38] Kim, D.-S., Hanifzadeh, M. and Kumar, A. (2018). Trend of biodiesel feedstock and its impact on biodiesel emission characteristics. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, 37(1), pp. 7-19. doi: 10.1002/ep.12800.
- [39] IDHMA. (2020). Advantages of emissions produced by biodiesel. [Online] Available at: <https://idhma.in/advantages-of-emissions-produced-by-biodiesel/> [Accessed 20 May 2023].
- [40] Firoz, S., 2017. A review: advantages and disadvantages of biodiesel. *International Research Journal of Engineering and Technology*, 4(11), pp.530-533.
- [41] Cunningham, M. (2011). 10 Disadvantages of Biofuels. [online] HowStuffWorks.com. Available at: <https://auto.howstuffworks.com/fuel-efficiency/biofuels/10-disadvantages-of-biofuels.htm> [Accessed 11 May 2023].
- [42] Marsh, J. (2022). Advantages and Disadvantages of Biodiesel. *Environment.co*. Retrieved May 11, 2023, from <https://environment.co/advantages-and-disadvantages-of-biodiesel/>.

- [43] Conserve Energy Future. (n.d.). Advantages and Disadvantages of Biodiesel. Retrieved May 11, 2023, from https://www.conserve-energy-future.com/advantages_disadvantages_biodiesel.php.
- [44] Hoekman, S. K., & Robbins, C. (2012). Review of the effects of biodiesel on NOx emissions. *Fuel Processing Technology*, 96, 237-249. ISSN 0378-3820. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2011.12.036>.
- [45] Tudge, S.J., Purvis, A. & De Palma, A. (2021). The impacts of biofuel crops on local biodiversity: a global synthesis. *Biodivers. Conserv.*, 30, 2863-2883. <https://doi.org/10.1007/s10531-021-02232-5>.
- [46] Nabgan, W., Abdul Jalil, A., Nabgan, B., Jadhav, A., Ikram, M., Ul-Hamid, A., Ali, M. W., & Hassan, N. (2022). Sustainable biodiesel generation through catalytic transesterification of waste sources: A literature review and bibliometric survey. *RSC Advances*, 12, 1604-1627. <https://doi.org/10.1039/d1ra07338a>.
- [47] Java T Point. (n.d.). Advantages and Disadvantages of Biodiesel. Available at: <https://www.javatpoint.com/advantages-and-disadvantages-of-biodiesel> [Accessed 11 May 2023].
- [48] Carrols, H., Dean, R., Goodwin, I., Merenciano, B., Yahyaoui, M. (2022). Fuel Microbiological Contamination Treatment. Safety first. Airbus S.A.S. Retrieved from <https://safetyfirst.airbus.com/fuel-microbiological-contamination-treatment/>.
- [49] Hill, E. C. and Hill, G. (2008). Microbial contamination and associated corrosion in fuels, during storage, distribution and use. *Advanced Materials Research*, 38, pp.257-268. doi:10.4028/www.scientific.net/AMR.38.257. [Trans Tech Publications, Switzerland].
- [50] Τσεσμελή, Χ. (2019). Ανάπτυξη Μικροοργανισμών στην Εφοδιαστική Αλυσίδα των Πετρελαιοειδών και Επιπτώσεις από τη Χρήση Ανανεώσιμων Υποκατάστατων [Διδακτορική Διατριβή, Ε.Μ.Π.].
- [51] Komariah, L. N., Arita, S., Rendana, M., Ramayanti, C., Suriani, N. L., & Erisna, D. (2022). Microbial contamination of diesel-biodiesel blends in storage tank; an analysis of colony morphology. *Heliyon*, 8(4), e09264. doi: 10.1016/j.heliyon.2022.e09264.

- [52] Courville, C. (2021). Addressing "Algae" in Diesel Fuel. AXI International. Available at: <https://axi-international.com/addressing-algae-in-diesel-fuel/> [Accessed: May 12, 2023].
- [53] Σιαμπαλή, Κ. (2022). Μικροβιακή ανάπτυξη στην εφοδιαστική αλυσίδα του πετρελαίου κίνησης [Μεταπτυχιακή Εργασία, Ε.Μ.Π., Σχολή Χημικών Μηχανικών].
- [54] Dodos, G. S., & Zannikos, F. (2013). Microbiological Growth Study of Biodiesel Fuel. SAE International Journal of Fuels and Lubricants, 6(2), 419–429. doi:10.4271/2013-01-1148.
- [55] Guan, F., Zhai, X., Duan, J., Zhang, M., & Hou, B. (2016). Influence of Sulfate-Reducing Bacteria on the Corrosion Behavior of High Strength Steel EQ70 under Cathodic Polarization. PLoS One, 11(9), e0162315. doi: 10.1371/journal.pone.0162315.
- [56] Ντόντος, Γ.Σ., Τσεσμελή, Χ., Λάμπρου, Μ., & Ζαννίκος, Φ. (2015). ΜΕΛΕΤΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΣΤΗΝ ΕΦΟΔΙΑΣΤΙΚΗ ΑΛΥΣΙΔΑ ΤΟΥ ΒΙΟΝΤΗΖΕΛ. 10ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΧΗΜΙΚΗΣ ΜΗΧΑΝΙΚΗΣ, ΠΑΤΡΑ, ΙΟΥΝΙΟΣ.
- [57] Werner, J. (2015). Distillation, flash point, sediment tests key to diesel health. The Triton. Retrieved May 15, 2023, from <https://www.the-triton.com/2015/01/distillation-flash-point-sediment-tests-key-to-diesel-health/>.
- [58] Passman, F. (2013). Microbial contamination and its control in fuels and fuel systems since 1980 – a review. International Biodeterioration & Biodegradation, 81, 88-104. doi:10.1016/j.ibiod.2012.08.002.
- [59] The Dow Chemical Company. (n.d.). Microbial Contamination of Diesel Fuel: Impact, Causes and Prevention. [Accessed: May 15, 2023]
- [60] Δαδουλίδης, Α. (2016). Η χρήση υγρού νανοσωματιδίων κολλοειδούς αργύρου για τον καθαρισμό μικροβιακών επικαθίσεων στο σύστημα καυσίμου [Μεταπτυχιακή εργασία, Α.Π.Θ.]. Επιβλέπων Καθηγητής: Ν. Μιχαηλίδης.
- [61] Ντόντος, Γ.Σ. (2013). Επιπτώσεις Ανανεώσιμων Υποκαταστάτων στη Λιπαντική Ικανότητα, την Οξειδωτική Συμπεριφορά και το Μικροβιακό Φορτίο των Πετρελαιοειδών. [Διδακτορική Διατριβή, Ε.Μ.Π.].
- [62] Zimmer, A., Cazarolli, J., Teixeira, R. M., Viscardi, S. L. C., Cavalcanti, E. S. H., Gerbase, A. E., Ferrão, M. F., Piatnicki, C. M. S., Bento, F. M. (2013). Monitoring of efficacy of antimicrobial products during 60 days storage

- simulation of diesel (B0), biodiesel (B100) and blends (B7 and B10). *Fuel*, 112, 153-162. doi:10.1016/j.fuel.2013.04.062.
- [63] Vereshchagin, A.N., Frolov, N.A., Egorova, K.S., Seitkalieva, M.M., & Ananikov, V.P. (2021). Quaternary Ammonium Compounds (QACs) and Ionic Liquids (ILs) as Biocides: From Simple Antiseptics to Tunable Antimicrobials. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(13), 6793. <https://doi.org/10.3390/ijms22136793>.
- [64] Lekbach, Y., Liu, T., Li, Y., Moradi, M., Dou, W., Xu, D., Smith, J.A., Lovley, D.R. (2021). Microbial corrosion of metals: The corrosion microbiome. *Advances in Microbial Physiology*, vol. 78, pp. 317-390, Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.ampbs.2021.01.002>.
- [65] Silva, P., Oliveira, S. H., Vinhas, G. M., Carvalho, L. J., Baraúna, O. S., Urtiga Filho, S. L., & Lima, M. A. G. A. (2021). Tetrakis hydroxymethyl phosphonium sulfate (THPS) with biopolymer as strategy for the control of microbiologically influenced corrosion in a dynamic system. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, 160, 108272. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2020.108272>.
- [66] How To Cleanz. (2022). How To Cleanz How to Clean Sludge from Oil Tank? 5 Easy steps. [online] Available at: <https://howtocleanz.com/how-to-clean-sludge-from-oil-tank/> [Accessed: July 14, 2023].
- [67] Crown Oil Fuels and Lubricants. (2014). Fuel Polishing. [online] Available at: <https://www.crownoil.co.uk/services/environmental/fuel-polishing/> [Accessed: July 14, 2023].
- [68] Biobor Fuel Additives. (2022). A Biocide Analysis, Recap. [online] Available at: <https://www.biobor.com/2022/02/23/a-biocide-analysis-recap/> [Accessed: July 14, 2023].
- [69] Biobor Fuel Additives. (2022). A Biocide Analysis, Part 3. [online] Available at: <https://www.biobor.com/2022/02/16/a-biocide-analysis-part-3/> [Accessed: July 14, 2023].
- [70] Fuel Test. (n.d.). Biociding and its Effects. [online] Available at: <https://fueltest.com.au/land-marine/biociding-and-its-effects/> [Accessed: July 14, 2023].
- [71] LuminUltra. (n.d.). Biocide Control. LuminUltra Technologies Ltd. Retrieved from <https://www.luminultra.com/biocide-control/>.

- [72] Bücke, F., de Moura, T.M., da Cunha, M.E., de Quadros, P.D., Beker, S.A., Cazarolli, J.C., Caramão, E.B., Frazzon, A.P.G., Bento, F.M. (2018). Evaluation of the detriogenic microbial community using qPCR, n-alkanes and FAMES biodegradation in diesel, biodiesel and blends (B5, B10, and B50) during storage. *Fuel*, 233, 911-917. ISSN 0016-2361. doi: 10.1016/j.fuel.2017.11.076. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0016236117314783>.
- [73] MN Editors. (2022). Adenosine triphosphate (ATP) Structure, Synthesis, Functions. *Microbiology Note*. Retrieved from <https://microbiologynote.com/adenosine-triphosphate-atp/>.
- [74] Reybroeck, W. (1999). ATP Bioluminescence: Application in Dairy Industry. In R. K. Robinson (Ed.). *Encyclopedia of Food Microbiology* (pp. 88-94). Elsevier. <https://doi.org/10.1006/rwfm.1999.0080>.
- [75] GL Biocontrol. (2022). Free ATP vs intracellular ATP. Retrieved from <https://www.gl-biocontrol.com/en/free-atp-vs-intracellular-atp/>.
- [76] Rafoth, A., Gabriel, S., Sacher, F., Brauch, H-J. (2007). Analysis of isothiazolinones in environmental waters by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1164(1-2), 74-81. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.07.040>.
- [77] Mondin, A., Bogialli, S., Venzo, A., Favaro, G., Badocco, D., Pastore, P. (2014). Characterization and quantification of N-(3-aminopropyl)-N-dodecyl-1,3-propanediamine biocide by NMR, HPLC/MS and titration techniques. *Chemosphere*, 95, 379-386. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.09.049>.
- [78] Sousa, R. P. C. L., Figueira, R. B., Costa, S. P. G., Raposo, M. M. M. (2020). Optical Fiber Sensors for Biocide Monitoring: Examples, Transduction Materials, and Prospects. *ACS Sensors*, 5(12), 3678-3709. <https://doi.org/10.1021/acssensors.0c01615>.
- [79] Morkus, P., Rassenberg, S., Montpetit, D., Filipe, C. D. M., Latulippe, D. R. (2023). Tuning the sensitivity of cell-based biosensors for the detection of biocides. *Chemosphere*, 331, 138740. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.138740>.
- [80] LuminUltra. (2021). Test Kit Instructions: QuenchGone Organic Modified.
- [81] LuminUltra Technologies. (2017). QGOM Test Kit Unboxing.

[82] ECHA Microbiology. "MicrobMonitor Biocide Rapide Test." ECHA Microbiology. Retrieved from <https://echamicrobiology.com/support/product-downloads?prod=biocide-rapide> [Accessed: August 14, 2023].

[83] Grabner Instruments. (n.d). Portable FT-IR Fuel Analysis: IROX 2000, IROX Diesel. Available at: www.grabner-instruments.com [Accessed: August 28, 2023]

[84] GRScientific. (2018). Aquamax KF, User Manual, Edition 1.3. April. [Online] Available at: www.grscientific.com [Accessed 28/8/2023].

Παράρτημα 1

Στο παρόν παράρτημα παρατίθεται ο πίνακας των κύριων μετρήσεων που αφορά το μικροβιακό φορτίο, την ανίχνευση βιοκτόνων και περαιτέρω βασικές πληροφορίες που συλλέχθηκαν σχετικά με τα υπό ανάλυση δείγματα.

Πίνακας 6-1: Κύριες μετρήσεις και πληροφορίες.

| | Μικροβιακό Φορτίο | | | Βιοκτόνο | Υγρασία (ppm) | FAME (%v/v) | Περιοχή | Σημείο Δειγματοληψίας |
|-----------|-------------------|------------|--------|-----------------|---------------|-------------|-----------------------------|------------------------|
| | 1η μέτρηση | 2η μέτρηση | (M.O.) | | | | | |
| 1 | 1,25 | 1,89 | 1,57 | Δεν ανιχνεύθηκε | 290 | 6,5 | Μεγάλο Κεφαλόβρυσο, Τρίκαλα | Δεξαμενή Πρατηρίου |
| 2 | 0,32 | 0,48 | 0,4 | Δεν ανιχνεύθηκε | 92 | 6,7 | Πέλλα | Δεξαμενή Πρατηρίου |
| 3 | 3,95 | 5,25 | 4,6 | Δεν ανιχνεύθηκε | 42,3 | 6,1 | Παιανία, Αττική | Δεξαμενή Βυτιοφόρου |
| 4 | 132,44 | 161,56 | 147 | Δεν ανιχνεύθηκε | 87,9 | 6,3 | Ξάνθη | Δεξαμενή Πρατηρίου |
| 5 | 16,48 | 23,52 | 20 | Δεν ανιχνεύθηκε | 90 | 6,5 | Πολύανθος, Ροδόπη | Δεξαμενή Πρατηρίου |
| 6 | 1,02 | 0,20 | 0,61 | Δεν ανιχνεύθηκε | 62 | 6,4 | Ζάκυνθος | Αντλία Πρατηρίου |
| 7 | 11,33 | 10,67 | 11 | Δεν ανιχνεύθηκε | 210 | 6,3 | Ζάκυνθος | Ντεπόζιτο Αυτοκινήτου |
| 8 | 0,09 | 0,65 | 0,37 | Δεν ανιχνεύθηκε | 86 | 6,3 | Πικέρμι, Αττική | Δεξαμενή Πρατηρίου |
| 9 | 1,85 | 3,45 | 2,65 | Δεν ανιχνεύθηκε | 109 | 6,4 | Σέρρες | Δεξαμενή Πρατηρίου |
| 10 | 3,31 | 4,21 | 3,76 | Δεν ανιχνεύθηκε | 113 | 6,7 | Ασπρόπυργος, Αττική | Δεξαμενή Εγκαταστάσεων |
| 11 | 0,45 | 1,03 | 0,74 | Δεν ανιχνεύθηκε | 85 | 6,8 | Καρδίτσα | Δεξαμενή Πρατηρίου |
| 12 | 0,22 | 1,62 | 0,92 | Δεν ανιχνεύθηκε | 92 | 6,5 | Κομοτηνή | Αντλία Πρατηρίου |
| 13 | 1,22 | 0,40 | 0,81 | Δεν ανιχνεύθηκε | 81 | 6,5 | Κομοτηνή | Αντλία Πρατηρίου |
| 14 | 0,43 | 0,49 | 0,46 | Δεν ανιχνεύθηκε | 124 | 6,6 | Χίος | Δεξαμενή Εγκαταστάσεων |
| 15 | 0,21 | 0,49 | 0,35 | Ανιχνεύθηκε | 310 | 6,8 | Θεσσαλονίκη | Δεξαμενή Πρατηρίου |

| | | | | | | | | |
|----|-------|-------|------|-----------------|-------|-----|--------------------------|----------------------------|
| 16 | 0,66 | 0,40 | 0,53 | Ανιχνεύθηκε | 333 | 6,9 | Χίος | Αντλία Πρατηρίου |
| 17 | 0,29 | 0,41 | 0,35 | Ανιχνεύθηκε | 589 | 6,8 | Άργος Ορεστικό, Καστοριά | Δεξαμενή Πρατηρίου |
| 18 | 0,14 | 0,56 | 0,35 | Ανιχνεύθηκε | 54 | 6,6 | - | Ντεπόζιτο Αυτοκινήτου |
| 19 | 0,10 | 0,28 | 0,19 | Ανιχνεύθηκε | 67 | 7 | Σέρρες | Βιομηχανικές Εγκαταστάσεις |
| 20 | 0,44 | 0,74 | 0,59 | Δεν ανιχνεύθηκε | 52 | 6,5 | Χίος | Δεξαμενή Εγκαταστάσεων |
| 21 | 1,94 | 2,78 | 2,36 | Δεν ανιχνεύθηκε | 64 | 6,6 | Πειραιάς, Αττική | Δεξαμενή Πρατηρίου |
| 22 | 4,51 | 3,29 | 3,9 | Δεν ανιχνεύθηκε | 56 | 6,6 | Πειραιάς, Αττική | Ντεπόζιτο Αυτοκινήτου |
| 23 | 2,33 | 1,03 | 1,68 | Δεν ανιχνεύθηκε | 76 | 6,8 | Μελισσοκομείο, Καβάλα | Δεξαμενή Πρατηρίου |
| 24 | 1,53 | 2,37 | 1,95 | Δεν ανιχνεύθηκε | 58 | 6,7 | Κάμπος, Χίος | Δεξαμενή Πρατηρίου |
| 25 | 3,20 | 2,20 | 2,7 | Δεν ανιχνεύθηκε | 81 | 6,7 | Περιστερί, Αττική | Δεξαμενή Πρατηρίου |
| 26 | 0,79 | 1,37 | 1,08 | Δεν ανιχνεύθηκε | 75 | 6,7 | Χίος | Δεξαμενή Εγκαταστάσεων |
| 27 | 9,66 | 4,14 | 6,9 | Δεν ανιχνεύθηκε | 75 | 6,7 | Ασπρόπυργος, Αττική | Δεξαμενή Εγκαταστάσεων |
| 28 | 2,63 | 3,57 | 3,1 | Δεν ανιχνεύθηκε | 63 | 6,7 | Ασπρόπυργος, Αττική | Δεξαμενή Εγκαταστάσεων |
| 29 | 0,77 | 1,73 | 1,25 | Δεν ανιχνεύθηκε | 60 | 6,9 | Παλαιοχώρι, Καβάλα | Δεξαμενή Βυτιοφόρου |
| 30 | 1,91 | 1,11 | 1,51 | Ανιχνεύθηκε | 72 | 6,7 | Παλαιοχώρι, Καβάλα | Αντλία Πρατηρίου |
| 31 | 2,64 | 3,92 | 3,28 | Δεν ανιχνεύθηκε | 45,96 | 6,5 | Γιαντισά, Πέλλα | Δεξαμενή Πρατηρίου |
| 32 | 13,50 | 20,90 | 17,2 | Δεν ανιχνεύθηκε | 257 | 6,6 | Γιαντισά, Πέλλα | Δεξαμενή Πρατηρίου |
| 33 | 4,45 | 2,55 | 3,5 | Δεν ανιχνεύθηκε | 64,7 | 6,4 | Οινόφυτα, Αττική | Ντεπόζιτο Αυτοκινήτου |
| 34 | 2,14 | 1,06 | 1,6 | Δεν ανιχνεύθηκε | 102,2 | 6,2 | Γιάλοβα, Μεσσηνία | Δεξαμενή Πρατηρίου |
| 35 | 0,56 | 2,02 | 1,29 | Δεν ανιχνεύθηκε | 77 | 6,7 | Ασπρόπυργος, Αττική | Δεξαμενή Εγκαταστάσεων |
| 36 | 4,57 | 2,67 | 3,62 | Δεν ανιχνεύθηκε | 89 | 6,6 | Ασπρόπυργος, Αττική | Δεξαμενή Εγκαταστάσεων |

| | | | | | | | | |
|----|--------|--------|------|-----------------|------|-----|----------------------------|------------------------|
| 37 | 4,05 | 6,35 | 5,2 | Δεν ανιχνεύθηκε | 105 | 6,7 | Καλύβια, Αττική | Δεξαμενή Πρατηρίου |
| 38 | 5,91 | 3,33 | 4,62 | Δεν ανιχνεύθηκε | 47 | 6,7 | Μαρκόπουλο, Αττική | Δεξαμενή Πρατηρίου |
| 39 | 1,86 | 0,84 | 1,35 | Ανιχνεύθηκε | 68 | 5,6 | Αθήνα, Αττική | Δεξαμενή Πρατηρίου |
| 40 | 1,47 | 2,41 | 1,94 | Ανιχνεύθηκε | 210 | 4,8 | Αθήνα, Αττική | Δεξαμενή Πρατηρίου |
| 41 | 1,84 | 0,28 | 1,06 | Δεν ανιχνεύθηκε | 145 | 6,3 | Ασπρόπυργος, Αττική | Δεξαμενή Εγκαταστάσεων |
| 42 | 3,61 | 1,99 | 2,8 | Δεν ανιχνεύθηκε | 97 | 6,8 | Ασπρόπυργος, Αττική | Δεξαμενή Εγκαταστάσεων |
| 43 | 0,20 | 1,30 | 0,75 | Δεν ανιχνεύθηκε | 62 | 6,7 | Χίος | Δεξαμενή Εγκαταστάσεων |
| 44 | 29,94 | 18,66 | 24,3 | Δεν ανιχνεύθηκε | 113 | 6,9 | Μεσολόγγι, Αιτωλοακαρνανία | Αντλία Πρατηρίου |
| 45 | 626,16 | 937,84 | 782 | Δεν ανιχνεύθηκε | 108 | 6,9 | Μεσολόγγι, Αιτωλοακαρνανία | Αντλία Πρατηρίου |
| 46 | 2,23 | 1,23 | 1,73 | Δεν ανιχνεύθηκε | 123 | 6,6 | Μεσολόγγι, Αιτωλοακαρνανία | Αντλία Πρατηρίου |
| 47 | 2,54 | 1,28 | 1,91 | Δεν ανιχνεύθηκε | 70 | 6,8 | Ασπρόπυργος, Αττική | Δεξαμενή Εγκαταστάσεων |
| 48 | 1,18 | 2,02 | 1,6 | Δεν ανιχνεύθηκε | 56 | 6,8 | Ασπρόπυργος, Αττική | Δεξαμενή Εγκαταστάσεων |
| 49 | 3,75 | 3,41 | 3,58 | Δεν ανιχνεύθηκε | 75 | 6,9 | Ηράκλειο, Αττική | Αντλία Πρατηρίου |
| 50 | 2,81 | 4,43 | 3,62 | Δεν ανιχνεύθηκε | 88 | 6,8 | Άλιμος, Αττική | Δεξαμενή Πρατηρίου |
| 51 | 3,44 | 5,22 | 4,33 | Δεν ανιχνεύθηκε | 65 | 6,6 | Μέγαρα, Αττική | Δεξαμενή Πρατηρίου |
| 52 | 2,23 | 0,75 | 1,49 | Δεν ανιχνεύθηκε | 8,8 | 6,8 | Πολυδένδρι, Αττική | Αντλία Πρατηρίου |
| 53 | 0,73 | 2,15 | 1,44 | Δεν ανιχνεύθηκε | 68,4 | 6,7 | Μοσχάτο, Αττική | Αντλία Πρατηρίου |
| 54 | 23,05 | 36,15 | 29,6 | Δεν ανιχνεύθηκε | 62,2 | 6,5 | Γλυφάδα, Αττική | Αντλία Πρατηρίου |
| 55 | 9,28 | 8,32 | 8,8 | Δεν ανιχνεύθηκε | 97 | 6,8 | Ωρωπός, Αττική | Δεξαμενή Πρατηρίου |
| 56 | 12,89 | 16,11 | 14,5 | Δεν ανιχνεύθηκε | 221 | 6,7 | Ωρωπός, Αττική | Δεξαμενή Πρατηρίου |

| | | | | | | | | |
|----|---------|---------|------------|--------------------|------|-----|----------------------------------|-----------------------|
| 57 | 0,34 | 0,76 | 0,55 | Δεν ανιχνεύθηκε | 98 | 6,7 | Λαύριο, Αττική | Αντλία Πρατηρίου |
| 58 | 1656,30 | 2391,30 | 2023, 8 | Δεν ανιχνεύθηκε | 68 | 6,9 | Μαντούδι, Εύβοια | Δεξαμενή Πρατηρίου |
| 59 | 1,28 | 0,50 | 0,89 | Δεν ανιχνεύθηκε | 90 | 6,6 | Κύμη, Εύβοια | Δεξαμενή Πρατηρίου |
| 60 | 4,00 | 5,60 | 4,8 | Δεν ανιχνεύθηκε | 65 | 6,6 | Χαλκίδα, Εύβοια | Δεξαμενή Πρατηρίου |
| 61 | 3,23 | 1,77 | 2,5 | Δεν ανιχνεύθηκε | 70 | 6,7 | Μάνδρα, Αττική | Αντλία Πρατηρίου |
| 62 | 8,47 | 4,99 | 6,73 | Δεν ανιχνεύθηκε | 75 | 6,8 | Ν. Πέραμος, Αττική | Αντλία Πρατηρίου |
| 63 | 14,79 | 10,15 | 12,47 | Δεν ανιχνεύθηκε | 88 | 6,9 | Βάρη, Αττική | Αντλία Πρατηρίου |
| 64 | 1,67 | 0,29 | 0,98 | Δεν ανιχνεύθηκε | 60,1 | 6,8 | Βάρη, Αττική | Δεξαμενή Πρατηρίου |
| 65 | 3,34 | 1,86 | 2,6 | Δεν ανιχνεύθηκε | 66 | 6,5 | Κορωπί, Αττική | Δεξαμενή Πρατηρίου |
| 66 | 325,67 | 208,73 | 267,2 | Δεν ανιχνεύθηκε | 73 | 6,7 | Μεσσηνία | Δεξαμενή Πρατηρίου |
| 67 | 1,50 | 2,60 | 2,05 | Δεν ανιχνεύθηκε | 50 | 6,6 | Μεσσήνη, Μεσσηνία | Αντλία Πρατηρίου |
| 68 | 1,19 | 2,33 | 1,76 | Δεν ανιχνεύθηκε | 58 | 6,4 | Ριζόμυλος, Μεσσηνία | Αντλία Πρατηρίου |
| 69 | 0,53 | 1,29 | 0,91 | Δεν ανιχνεύθηκε | 60,4 | 6,9 | Κέντρο, Θεσσαλονίκη | Αντλία Πρατηρίου |
| 70 | 59,91 | 36,09 | 48 | Δεν ανιχνεύθηκε | 61,4 | 6,6 | Κέντρο, Θεσσαλονίκη | Αντλία Πρατηρίου |
| 71 | 0,61 | 1,23 | 0,92 | Δεν ανιχνεύθηκε | 84 | 6,8 | Σίνδος, Θεσσαλονίκη | Αντλία Πρατηρίου |
| 72 | 0,81 | 1,87 | 1,34 | Δεν ανιχνεύθηκε | 92 | 6,7 | Αγ. Τριάδα, Θεσσαλονίκη | Αντλία Πρατηρίου |
| 73 | 1,64 | 0,26 | 0,95 | Δεν ανιχνεύθηκε | 47 | 6,8 | Καλαμαριά, Θεσσαλονίκη | Αντλία Πρατηρίου |
| 74 | 2,28 | 3,44 | 2,86 | Δεν ανιχνεύθηκε | 53 | 6,4 | Καλαμαριά, Θεσσαλονίκη | Αντλία Πρατηρίου |
| 75 | 2,27 | 1,31 | 1,79 | Δεν ανιχνεύθηκε | 67 | 6,9 | Περαία, Θεσσαλονίκη | Αντλία Πρατηρίου |
| 76 | 3,70 | 2,74 | 3,22 | Δεν ανιχνεύθηκε | 112 | 6,6 | Κέντρο, Θεσσαλονίκη | Αντλία Πρατηρίου |
| 77 | 0,65 | 1,49 | 1,07 | Δεν ανιχνεύθηκε | 98 | 6,5 | Νέα Μηχανιώνα, Θεσσαλονίκη | Αντλία Πρατηρίου |

| | | | | | | | | |
|----|-------|-------|------|--------------------|------|-----|------------------------|-----------------------|
| 78 | 0,78 | 1,74 | 1,26 | Δεν ανιχνεύθηκε | 77 | 6,7 | Θέρμη, Θεσσαλονίκη | Αντλία Πρατηρίου |
| 79 | 1,27 | 1,13 | 1,2 | Δεν ανιχνεύθηκε | 59 | 6,4 | Πυλαία, Θεσσαλονίκη | Αντλία Πρατηρίου |
| 80 | 57,39 | 94,01 | 75,7 | Δεν ανιχνεύθηκε | 185 | 6,9 | Θεσσαλονίκη | Αντλία Πρατηρίου |
| 81 | 1,57 | 2,59 | 2,08 | Δεν ανιχνεύθηκε | 74 | 6,8 | Ακταίο, Αχαΐα | Δεξαμενή Πρατηρίου |
| 82 | 2,33 | 3,07 | 2,7 | Δεν ανιχνεύθηκε | 58 | 6,3 | Πάτρα, Αχαΐα | Δεξαμενή Πρατηρίου |
| 83 | 1,21 | 0,69 | 0,95 | Δεν ανιχνεύθηκε | 89 | 6,9 | Πύργος, Ηλεία | Δεξαμενή Πρατηρίου |
| 84 | 21,16 | 17,85 | 19,5 | Δεν ανιχνεύθηκε | 73 | 6,9 | Πύργος, Ηλεία | Δεξαμενή Πρατηρίου |
| 85 | 1,55 | 1,03 | 1,29 | Ανιχνεύθηκε | 76,9 | 6,8 | Αθήνα, Αττική | Αντλία Πρατηρίου |
| 86 | 1,05 | 0,29 | 0,67 | Δεν ανιχνεύθηκε | 89 | 6,5 | Ωρωπός, Αττική | Αντλία Πρατηρίου |

Παράρτημα 2

Οι πληροφορίες που συλλέχθηκαν και παρουσιάζονται παρακάτω, αφορούν διάφορα χαρακτηριστικά (πέρα από αυτά του παραρτήματος 1) των δειγμάτων ντήζελ κίνησης. Τα αποτελέσματα του πίνακα αποτελούν σαφή απόδειξη ότι τα δείγματα που αναλύθηκαν είναι δείγματα που διακινούνται στην αγορά καυσίμων, αφού στην πλειονότητα τους τηρούνται οι προδιαγραφές προβλέπονται από τα αντίστοιχα πρότυπα.

Πίνακας 6-2: Μετρήσεις καταλληλότητας διακίνησης στην αγορά.

| | CETANE INDEX | CETANE NUMBER | DENSITY 15°C (kg/m ³) | FLASH POINT (°C) | POLYAROMATICS (% v/v) | SPOT TEST EUROMARKER | SULPHUR CONTENT (ppm) | VISCOSITY at 40°C (mm ² /s) |
|----|--------------|---------------|-----------------------------------|------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|--|
| 1 | 59,5 | 57,6 | 828,8 | 55 | 1,3 | ΑΡΝΗΤΙΚΟ | 8,7 | 2,68 |
| 2 | 55,6 | 55,6 | 841,4 | 67 | 0,2 | ΑΡΝΗΤΙΚΟ | 9,3 | 2,8 |
| 3 | 57,1 | 55,3 | 835 | 57 | 1,1 | ΑΡΝΗΤΙΚΟ | 30 | 2,55 |
| 4 | 54,3 | 54,7 | 840,6 | 64 | 0,7 | ΑΡΝΗΤΙΚΟ | 8,1 | 2,74 |
| 5 | 55,6 | 55,5 | 839,6 | 65 | 0,6 | ΑΡΝΗΤΙΚΟ | 8,3 | 2,72 |
| 6 | 51,7 | 55,3 | 835,6 | 65 | 1,1 | ΑΡΝΗΤΙΚΟ | 6,5 | 2,63 |
| 7 | 55,4 | 55,2 | 843,7 | 63 | 0,8 | ΑΡΝΗΤΙΚΟ | 11,8 | 2,62 |
| 8 | 55,5 | 54,4 | 830,4 | 64 | 2,5 | ΑΡΝΗΤΙΚΟ | 6,5 | 2,32 |
| 9 | 58 | 54,9 | 833,3 | 63,5 | 1,1 | ΑΡΝΗΤΙΚΟ | 9,8 | 2,66 |
| 10 | 57,1 | 55,1 | 830,7 | 66 | 2,11 | ΑΡΝΗΤΙΚΟ | 7,8 | 2,42 |
| 11 | 57,6 | 55,2 | 836,1 | 57 | 1,3 | ΑΡΝΗΤΙΚΟ | 8,3 | 2,71 |

| | | | | | | | | |
|----|------|------|-------|------|-----|----------|------|------|
| 12 | 57,5 | 55 | 835,1 | 65 | 0,7 | APNHTIKO | 8 | 2,68 |
| 13 | 58 | 55 | 832 | 63 | 0,4 | APNHTIKO | 8,5 | 2,63 |
| 14 | 58,1 | 55,4 | 827,3 | 58 | 2,1 | APNHTIKO | 8,9 | 2,41 |
| 15 | 59,4 | 56,4 | 832 | 67 | 1,1 | APNHTIKO | 8,4 | 2,74 |
| 16 | 57,2 | 54,7 | 833,1 | 66 | 2,3 | APNHTIKO | 9,1 | 2,47 |
| 17 | 57,8 | 55,2 | 835,6 | 65 | 1,2 | APNHTIKO | 7,1 | 3,14 |
| 18 | 57,5 | 54,9 | 831,8 | 60 | 0,7 | APNHTIKO | 7,8 | 2,42 |
| 19 | 57,9 | 56 | 835,1 | 64 | 1,4 | APNHTIKO | 7,5 | 2,66 |
| 20 | 56,9 | 55,3 | 832 | 64 | 0,3 | APNHTIKO | 8,6 | 2,47 |
| 21 | 57,7 | 56,2 | 832,6 | 65 | 0,2 | APNHTIKO | 7,5 | 2,48 |
| 22 | 58,6 | 56,3 | 830,5 | 64 | 1,5 | APNHTIKO | 8,8 | 2,42 |
| 23 | 59,3 | 55,9 | 825 | 50 | 0 | APNHTIKO | 9,1 | 2,54 |
| 24 | - | 54,2 | - | 62,4 | 0,7 | APNHTIKO | 9,2 | 3,31 |
| 25 | 58,1 | 56,3 | 832 | 57 | 1,1 | APNHTIKO | 7 | 2,43 |
| 26 | 58,1 | 56,3 | 835,4 | 63 | 0,4 | APNHTIKO | 6 | 2,68 |
| 27 | 57,1 | 55,5 | 831,8 | 63 | 1,6 | APNHTIKO | 6 | 3,14 |
| 28 | 58,2 | 56,1 | 831,6 | 63 | 1,8 | APNHTIKO | 9,1 | 2,53 |
| 29 | 60,7 | 56,8 | 824,9 | 57 | 0 | APNHTIKO | 6,2 | 2,63 |
| 30 | 60,8 | 57,2 | 825,2 | 58 | 0 | APNHTIKO | 6 | 2,61 |
| 31 | 59,5 | 56,2 | 825,8 | 57 | 0,2 | APNHTIKO | 6,3 | 2,66 |
| 32 | - | 55,6 | 838,7 | 59,8 | 1,2 | APNHTIKO | 7,2 | 2,99 |
| 33 | - | 53,8 | 837,1 | 64,7 | 0,9 | APNHTIKO | 8,3 | 2,76 |
| 34 | 60 | 55 | 824 | 66,2 | 1 | APNHTIKO | 6,6 | 2,78 |
| 35 | 58,5 | 56 | 820 | 59 | 1,5 | APNHTIKO | 7,4 | 2,92 |
| 36 | 59,7 | 57,1 | 820 | 65 | 1,4 | APNHTIKO | 8 | 3,44 |
| 37 | 57,4 | 55,4 | 831 | 60,9 | 1 | APNHTIKO | 7,4 | 2,83 |
| 38 | 58,7 | 56,7 | 829 | 67,8 | 0,8 | APNHTIKO | 5,4 | 2,61 |
| 39 | 58 | 57,9 | 831 | 63,1 | 1,2 | APNHTIKO | 80 | 3,08 |
| 40 | 56,1 | 56 | 832 | 58,5 | 1,5 | APNHTIKO | 16,0 | 2,45 |
| 41 | 53,7 | 56,3 | 835,5 | 67,3 | 1,4 | APNHTIKO | 8,9 | 2,87 |
| 42 | 54,6 | 54,7 | 838,2 | 55,9 | 0,3 | APNHTIKO | 7,8 | 2,75 |
| 43 | 57,1 | 53,4 | 836,4 | 57,4 | 0,8 | APNHTIKO | 6,5 | 3,2 |
| 44 | 56,2 | 55,9 | 832,8 | 65,6 | 1 | APNHTIKO | 8,3 | 2,71 |
| 45 | 53,4 | 57 | 827,9 | 59,1 | 1,3 | APNHTIKO | 6,7 | 3,49 |
| 46 | 55,8 | 54,5 | 828,3 | 60,2 | 0,6 | APNHTIKO | 8,1 | 3,02 |
| 47 | 58 | 53,5 | 835,9 | 68,1 | 1,5 | APNHTIKO | 9,4 | 2,36 |
| 48 | 57,3 | 56,1 | 826,2 | 57,7 | 0,2 | APNHTIKO | 9 | 2,67 |
| 49 | 58,6 | 56,5 | 832,4 | 66,5 | 1,6 | APNHTIKO | 5,8 | 3,42 |
| 50 | - | 54,9 | 832,4 | 66,8 | 0,5 | APNHTIKO | 9,5 | 2,94 |
| 51 | 56,8 | 53,2 | 840,3 | 63,7 | 1,1 | APNHTIKO | 7,9 | 3,26 |
| 52 | 54,9 | 56,1 | 832 | 67,3 | 1,5 | APNHTIKO | 8,8 | 0 |
| 53 | 53,8 | - | 840,9 | 68,3 | 0,7 | APNHTIKO | 6,8 | 2,78 |
| 54 | 54,9 | 57,2 | 826,5 | 56,9 | 1,2 | APNHTIKO | 6,2 | 2,51 |
| 55 | 58,4 | 55,3 | 836,8 | 62,1 | 0,9 | APNHTIKO | 6 | 3,07 |
| 56 | 59,1 | 54,3 | 831,1 | 67 | 0,6 | APNHTIKO | 9,6 | 3,33 |
| 57 | 52,8 | 53,7 | 827,2 | 58,9 | 1 | APNHTIKO | 9,3 | 2,37 |

| | | | | | | | | |
|----|------|------|-------|------|-----|----------|-----|------|
| 58 | 55 | 56,4 | 833,7 | 65,1 | 0,8 | APNHTIKO | 8,6 | 2,39 |
| 59 | - | 57,3 | 829,4 | 61,7 | 0,5 | APNHTIKO | 8 | 3,36 |
| 60 | 58,2 | 55,1 | 826,7 | 62,9 | 1,4 | APNHTIKO | 7 | 3,46 |
| 61 | 52 | 53,3 | 831 | 68,5 | 0,7 | APNHTIKO | 6,3 | 3,51 |
| 62 | 56,1 | 54 | 831 | 63,4 | 0,4 | APNHTIKO | 7,1 | 2,43 |
| 63 | 52,6 | 53,3 | 839,5 | 56,3 | 1,3 | APNHTIKO | 7,3 | 2,34 |
| 64 | 54,1 | 57,4 | 828,6 | 58,7 | 0,1 | APNHTIKO | 9,2 | 2,42 |
| 65 | 53,2 | 56 | 842,2 | 64,3 | 1,5 | APNHTIKO | 8,2 | 2,33 |
| 66 | 57,5 | 55,4 | 832,1 | 61,5 | 1,1 | APNHTIKO | 7,3 | 2,58 |
| 67 | 53,8 | 54,3 | 832,4 | 66,7 | 2,2 | APNHTIKO | 6,9 | 2,74 |
| 68 | 53,7 | 53 | 830,8 | 55,8 | 2,5 | APNHTIKO | 9,1 | 3,22 |
| 69 | 58,7 | 53,6 | 831,4 | 63,5 | 0,7 | APNHTIKO | 7,3 | 2,69 |
| 70 | 59,4 | 54,8 | 835,1 | 67,1 | 0,9 | APNHTIKO | 5,9 | 2,9 |
| 71 | 56,5 | 57,5 | 828,9 | 60,3 | 1 | APNHTIKO | 6,1 | 2,84 |
| 72 | 52,2 | 54,1 | 842,7 | 59,6 | 0,6 | APNHTIKO | 6,4 | 2,41 |
| 73 | - | 56,2 | 837,8 | 65,9 | 0,8 | APNHTIKO | 8,7 | 3,13 |
| 74 | 55,4 | 53,9 | 834,3 | 64,4 | 1,2 | APNHTIKO | 9 | 3,4 |
| 75 | 57,9 | 55,7 | 830,8 | 59,3 | 0,5 | APNHTIKO | 7,7 | 2,47 |
| 76 | 58,9 | 56,5 | 836,2 | 61 | 1,3 | APNHTIKO | 8,2 | 2,66 |
| 77 | 54,4 | 54,6 | 830,1 | 63,9 | 0,3 | APNHTIKO | 8,8 | 2,64 |
| 78 | - | 53,1 | 838,4 | 57,3 | 0,7 | APNHTIKO | 7,5 | 2,82 |
| 79 | - | 57,1 | 826 | 62,7 | 1,4 | APNHTIKO | 7,4 | 3,18 |
| 80 | 53,5 | 55 | 826,9 | 58,1 | 0,2 | APNHTIKO | 6,3 | 3,48 |
| 81 | 55,6 | 54,4 | 839 | 56,8 | 0,8 | APNHTIKO | 8,4 | 3,27 |
| 82 | 52,9 | 53,8 | 834,7 | 61,2 | 1,1 | APNHTIKO | 5,6 | 2,5 |
| 83 | 57,7 | - | 843 | 65,2 | 0,9 | APNHTIKO | 8,5 | 3,23 |
| 84 | 54,7 | 55,8 | 827,6 | 59,7 | 0,4 | APNHTIKO | 8,6 | 3,15 |
| 85 | 56,9 | 54,5 | 827,4 | 67,5 | 1 | APNHTIKO | 7,2 | 2,44 |
| 86 | 59,6 | 56,7 | 831,7 | 62,2 | 1,5 | APNHTIKO | 6,6 | 2,72 |

Παράρτημα 3

Στα πλαίσια της μελέτης της επίδρασης του χρόνου αποθήκευσης στην μικροβιακή ανάπτυξη, μετρήθηκαν ξανά 10 τυχαία δείγματα, μετά το πέρας ορισμένων χρόνων αποθήκευσης, όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 6-3: Μετρήσεις χρόνου αποθήκευσης μεταξύ 1ης και 2ης μέτρησης.

| | Χρόνος αποθήκευσης (ημέρες) | Μικροβιακό Φορτίο pg ATP/ mL | |
|----|--------------------------------|---------------------------------|------------|
| | | 1η μέτρηση | 2η μέτρηση |
| | 1 | 139 | 1,57 |
| 2 | 175 | 0,4 | 0,72 |
| 3 | 112 | 0,37 | 0,65 |
| 4 | 146 | 0,92 | 1,76 |
| 5 | 107 | 0,35 | 0,52 |
| 6 | 17 | 1,51 | 1,57 |
| 7 | 17 | 3,28 | 3,49 |
| 8 | 30 | 1,94 | 2,13 |
| 9 | 30 | 2,05 | 2,21 |
| 10 | 90 | 0,53 | 0,68 |